

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**Procesado de imágenes OCT para la
detección precoz del Alzheimer
(OCT imaging for early Alzheimer's detection)**

Para acceder al Título de

***Graduado en
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación***

Autor: Natalia López Herrera

Octubre - 2020

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

Realizado por: Natalia López Herrera

Director del TFG: Eusebio Real Peña y Alfonso Casado Rojo

Título: “Procesado de imágenes OCT para la detección precoz del Alzheimer”

Title: “OCT imaging for early Alzheimer’s detection “

Presentado a examen el día: 29 de octubre de 2020

para acceder al Título de

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Casanueva López, Alicia

Secretario (Apellidos, Nombre): Conde Portilla, Olga María

Vocal (Apellidos, Nombre): García Arranz, Marta

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de:

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

Fdo.: El Director del TFG
(sólo si es distinto del Secretario)

Vº Bº del Subdirector

Trabajo Fin de Grado Nº
(a asignar por Secretaría)

Este trabajo ha sido realizado gracias a los medios proporcionados por los proyectos DAPATOO (INNAL 18/23), INTRACARDIO (DTS17/00055) financiados por el ISCIII, la Fundación Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL) y cofinanciado con fondos FEDER. Para la obtención de datos clínicos han colaborado también los Doctores Pascual Sánchez Juan y Alicia López de Eguileta Rodríguez

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría dar las gracias tanto a Olga como Eusebio por la ayuda aportada durante este trabajo. Por la paciencia ante mis agobios y la comprensión y disponibilidad a lo largo del proyecto.

Estos años de estudio me han aportado mucho, entre otras cosas, un grupo de compañeros que, casi sin darme cuenta, se fueron transformando en amigos. Gracias a ellos por el apoyo incondicional, las largas horas de estudio y, en resumen, por compartir estos años conmigo. En especial, agradecer a mis compañeras de piso por estar ahí estos 2 últimos meses y hacerme los días un poco menos difíciles.

A mis padres por haber sido siempre su mayor prioridad y por darme ánimos y fuerza cuando yo misma no se hacerlo.

Finalmente, gracias a todos los profesores que han aportado su granito de arena para que hoy me encuentre escribiendo este texto, tanto en los años previos como durante el Grado.

Índice

Capítulo I: Introducción	1
1.1. Contexto del trabajo	2
1.1.1. Alzheimer y deterioro cognitivo leve	2
1.1.2. La estadística en medicina	3
1.1.3. Estudios sobre el ojo y el Alzheimer	3
1.2. Antecedentes del diagnóstico oftalmológico del Alzheimer	4
1.2.2. Introducción	4
1.2.3. Diagnóstico de sujetos	4
1.2.4. Evaluación oftalmológica	5
1.2.5. Resultados del estudio	6
1.3. Objetivo	7
1.4. Estructura del documento	7
Capítulo II: Teoría y estado del arte	9
2.1. La enfermedad del Alzheimer	10
2.1.1. Alzheimer y el deterioro cognitivo leve	10
2.1.2. Tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada	11
2.1.3. ¹¹ C-PiB para detectar β -amiloide	11
2.2. La retina	13
2.2.1. El ojo y la retina	13
2.2.1.1. Estructura macroscópica de la retina	14
2.2.1.2. Estructura microscópica de la retina	15
2.2.2. Tomografía de coherencia óptica	17
2.3. Técnicas estadísticas	18
2.3.1. Introducción	18
2.3.2. Diagramas de caja	19
2.3.4. Métricas de distancias	20
2.3.4.1. Distancia de Mahalanobis	20
2.3.4.2. Distancia de Bhattacharyya	21
2.3.5. Escalamiento multidimensional (MDS)	21
2.3.5.1. Escalamiento multidimensional métrico o clásico	21
2.3.5.2. Escalamiento multidimensional no métrico	22
Capítulo III: Desarrollo y procedimiento	25
3.1. Material utilizado	26

3.1.2. Test T de <i>Student</i>	32
3.1.3. Métricas de distancias	35
3.1.3.1. Distancia de Mahalanobis.....	35
3.1.3.2. Distancia de Bhattacharyya	38
3.2. Técnicas estadísticas para MCI	40
3.2.1. Selección de características mediante ReliefF	42
3.2.2. Escalamiento multidimensional (MDS)	45
3.3. Resultados	50
Capítulo IV: Conclusiones y líneas futuras	53
4.1. Conclusiones	55
4.2. Líneas futuras	55

Capítulo I: Introducción

1.1. Contexto del trabajo

1.1.1 Alzheimer y deterioro cognitivo leve

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a una gran parte de la población mundial, unos 50 millones de personas según datos de la Organización Mundial de la Salud. Esa cantidad corresponde a entre un 5% y un 8% de la población global mayor de 60 años. Además, cada año se registran 10 millones de casos nuevos y se calcula que el número total de personas con demencia llegue a los 152 millones en 2050 [1]. En el caso de España, el envejecimiento de la población está causando que las cifras de la enfermedad aumenten gravemente, siendo hoy en día el número de personas afectadas de aproximadamente 1.200.000 [2].

A pesar de que, en la actualidad, la enfermedad no tiene tratamiento definitivo, el diagnóstico temprano puede ayudar a preservar la funcionalidad del enfermo durante un tiempo. Sin embargo, existen ciertos tratamientos que frenan la pérdida de memoria o ayudan a manejar los problemas de comportamiento causados por la enfermedad. Este diagnóstico en la etapa temprana del Alzheimer ayuda a las familias a asimilar y planificar la nueva situación a la que se enfrentan. Además, el diagnóstico precoz permite que estos pacientes participen en pruebas clínicas que experimentan con posibles tratamientos [3].

Actualmente la enfermedad de Alzheimer se diagnostica después de una serie de evaluaciones y exámenes que descartan otras patologías. Sin embargo, no se considera a ninguna de estas pruebas como clara y definitiva. Por ahora, la enfermedad solo puede confirmarse examinando el tejido cerebral *post mortem* mediante un estudio anatómico, microscópico y bioquímico de ese tejido. El estudio anatómico de los cerebros con Alzheimer muestra una clara disminución de su peso y volumen y del espesor de la corteza. Entre los múltiples cambios a nivel microscópico, las dos características más comunes son las alteraciones neurofibrilares extra neuronales (Placas seniles) y acumulaciones de fibrillas intra neuronales. Por último, a nivel bioquímico se observa la disminución de los niveles de varios neurotransmisores de las neuronas mayoritariamente afectadas [4].

El deterioro cognitivo leve (MCI) es una reducción de las funciones cognitivas como la memoria, la atención, el lenguaje o las habilidades visuales y espaciales, siendo la más común el deterioro de la memoria. Estos defectos suelen ser advertidos por el individuo o por aquellos cercanos a él y se pueden detectar y cuantificar de forma definitiva mediante una prueba cognitiva. Se le considera como la mayor forma de predicción del Alzheimer y la demencia. Es decir, existe un porcentaje alto de afectados por MCI que acaban desarrollando algún tipo de demencia, pero no es siempre el caso, ya que pueden llegar a recuperar sus habilidades cognitivas normales o desarrollar otros tipos de patologías distintas. Se estima que cada año la proporción de tránsito de MCI a Alzheimer u otras demencias es del 12% al 15%.

Como se ha mencionado, su detección se realiza mediante pruebas cognitivas, por lo que es importante encontrar formas de detección que se basen en cambios fisiológicos en el sistema nervioso de los pacientes. Una detección temprana de MCI podría permitir centrarse en el Alzheimer en su edad más temprana, antes de deterioro severo e irreversible del cerebro. Al igual que la demencia, los casos de MCI están incrementándose globalmente y se cree que para 2050 el número de individuos mayores de 60 años con MCI será aproximadamente 2 billones, lo que correspondería al 22% de la población mundial.

Por esas razones, los estudios clínicos se están centrando tanto en el desarrollo de terapias para prevenir las causas fundamentales de la enfermedad, como en técnicas

de diagnóstico que ayuden a realizar esa detección temprana en la fase de deterioro cognitivo leve.

En los últimos años, esas técnicas se han enfocado en la detección del Alzheimer a través del ojo. Hay numerosas evidencias que relacionan a la retina con diversas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, el Alzheimer o la esquizofrenia [5]. La retina forma parte del sistema nervioso central y tiene similitudes con el cerebro, por lo que es un modelo perfecto para el estudio de patologías neurodegenerativas. Otra razón por la que el ojo es un biomarcador muy atractivo es la accesibilidad que posee la retina mediante métodos no invasivos.

1.1.2. La estadística en medicina

La rama de la estadística aplicada a la medicina se conoce como bioestadística. Hoy en día se utiliza en todas las especialidades sanitarias como epidemiología, genética o nutrición. La estadística forma parte indispensable de cualquier estudio clínico ya que es la forma de medir la fiabilidad de los resultados de forma cuantitativa. Además, el campo de la estadística dedicado a la visualización de datos es realmente útil en el análisis de los datos obtenidos en cualquier tipo de investigación. Por ejemplo, resulta más sencillo deducir si los resultados obtenidos son correctos observando un histograma o un gráfico circular, que estudiando una tabla con cientos de valores numéricos. En conclusión, se puede definir a la bioestadística como el método objetivo y racional mediante el cual se comprueba una hipótesis científica.

Por tanto, es necesario que las ciencias de la salud estén constantemente ligadas a las matemáticas y que estas últimas estén al servicio de todos los ámbitos de la salud, pero que también el personal sanitario sea instruido en el uso de técnicas estadísticas.

1.1.3. Estudios sobre el ojo y el Alzheimer

Múltiples estudios recientes, haciendo uso de sistemas ópticos Tomografía de Coherencia Óptica (OCT), han evidenciado que la enfermedad del Alzheimer está asociada con varias lesiones de la retina, entre ellas la pérdida de las células ganglionares y adelgazamiento de la capa de las fibras nerviosas [6]. Se ha demostrado que estas lesiones en las capas de la retina pueden ocurrir incluso en estados tempranos de la enfermedad.

Además, en otros estudios realizados a pacientes con Alzheimer, como el llevado a cabo por investigadores del Cedars-Sinai Medical Center de Los Ángeles [7], se han identificado placas amiloides en las retinas de los sujetos. Las placas amiloides suelen ser un claro biomarcador del Alzheimer, pero habitualmente se encuentran en ciertas áreas del cerebro.

Numerosos hospitales, entre ellos españoles, se han sumado al desarrollo de este tipo de proyectos, siendo uno de ellos el realizado por el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y en el que se basa este trabajo [8]. En el estudio se ha incluido el análisis de diversas capas de la retina, algunas de las cuales había sido medida para el diagnóstico de otras enfermedades. Además, la elección y diagnóstico de sujetos patológicos se ha realizado mediante 11C-PiB PET/CT, una técnica de diagnóstico por imagen utilizada por el departamento de medicina nuclear de Valdecilla [9]. Esta técnica se centra en el uso de un compuesto de carbono (Compuesto B de Pittsburgh marcado con carbono 11) para la detección de depósitos de amiloides en el cerebro, sirviendo de marcador para otros métodos de imagen como PET (tomografía por emisión de positrones PET

(PET, *Positron Emission Tomography*) y la tomografía computarizada CT (CT, *Computed Tomography*). Sin embargo, esta técnica no posee una garantía total de detección de la enfermedad, además de tratarse de un método invasivo y económicamente costoso.

Es por esa razón que se llevan a cabo este tipo de estudios, con vistas de que en el futuro el diagnóstico temprano de la enfermedad del Alzheimer se pueda realizar de forma fácil, certera y sobre todo de forma no invasiva a través de la retina.

1.2. Antecedentes del diagnóstico oftalmológico del Alzheimer

1.2.2. Introducción

El artículo en el que se basa este trabajo se llama "*Reducción de la capa de células ganglionares de la retina en la fase prodrómica de la enfermedad del Alzheimer definida por PET amiloide*" [8]. Su objetivo es cuantificar las variaciones anatómicas del nervio óptico y de las capas de la retina entre pacientes con trastorno cognitivo leve (MCI, *Mild Cognitive Impairment*) y con enfermedad de Alzheimer (AD, *Alzheimer's disease*), diagnosticados mediante C-PIB PET/CT (PET/CT, *Positron Emission Tomography/Computed Tomography*), y pacientes sanos o de control (HC, *Healthy Controls*). Para realizar las medidas necesarias de las diferentes capas de la retina se ha utilizado la técnica de Tomografía de Coherencia Óptica (OCT, *Optical Coherence Tomography*) en el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV).

1.2.3. Diagnóstico de sujetos

El estudio se llevó a cabo con medidas de 126 ojos en total. La mitad de los ojos pertenecían a sujetos que presentaban patología neurodegenerativa (con AD y MCI) y la otra mitad a pacientes sanos HC.

El procedimiento consistió en escoger pacientes mayores de 55 años, siendo la edad media de $73,5 \pm 6$ años. Se emparejó a cada paciente patológico con uno sano de su misma edad con el objetivo de aumentar la fiabilidad del estudio.

Los sujetos que participaron el estudio fueron seleccionados entre los pacientes de los Servicios de Neurología y Oftalmología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Su diagnóstico había sido establecido por un equipo de neurólogos mediante un estudio que determina los cambios tempranos que produce la enfermedad. También fueron evaluados por un equipo que descartó otras etiologías psiquiátricas o neurológicas. Además, todos los participantes fueron sometidos a evaluación neuropsicológica de los principales dominios cognitivos (memoria, lenguaje, praxis, percepción visual y funciones frontales). También se realizaron técnicas de neuroimagen mediante tomografía computarizada o imagen por resonancia magnética (MRI, *Magnetic Resonance Imaging*). Finalmente, los sujetos fueron sometidos a un análisis con la técnica ¹¹C-PiB PET/CT en el Servicio de Medicina Nuclear del HUMV y los escáneres obtenidos fueron interpretados por neurólogos que determinaron si los sujetos eran positivos o negativos en captación de PiB cortical.

Además de los criterios de exclusión de enfermedades neurológicas, tampoco participaron en el estudio personas con ametropía o astigmatismo que superasen ciertas dioptrías o con cualquier historial de operaciones o enfermedades oculares. Además, se especificó que cumpliesen un valor mínimo de agudeza visual. Estos criterios son

una parte fundamental de la ética de todos los estudios clínicos para evitar que los resultados sean alterados por factores que no conciernen al propio estudio.

1.2.4. Evaluación oftalmológica

Todos los pacientes se sometieron a un examen mediante tomografía de coherencia óptica OCT. Además, se llevó a cabo una evaluación oftalmológica profunda en la que se incluyó la medida de la agudeza visual o la presión intraocular (IOP, *Intraocular Pressure*), entre otras. Mediante el análisis por OCT realizado, se obtuvieron las medidas de los grosores de las capas de la retina, así como del nervio óptico. Las capas que se incluyen en el estudio son: la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL, *Retinal Nerve Fiber Layer*), la capa de células ganglionares (GCL, *Ganglion Cells Layer*), la capa plexiforme interna (IPL, *Inner Plexiform Layer*) y la capa nuclear externa (ONL, *Outer Nuclear Layer*). También se realizó la medida de la Lámina Cribosa (LC) y de la apertura de la membrana de Bruch en relación con el ancho mínimo del anillo (BMO-RMW, *Bruch's Membrane Opening-Minimum Rim Width*). Todas las medidas realizadas se obtuvieron en micrómetros (μm).

En primer lugar, se realizó la medida del grosor de la retina. El equipo dibuja una línea entre el centro de la fovea y el del disco óptico que se utiliza como línea de referencia y se realizan 61 escáneres paralelos a esa referencia. Además, se divide la retina en 4 sectores de $3 \times 3^\circ$, sector superior, sector inferior, sector temporal y sector nasal.

En segundo lugar, se obtiene la medida de las capas GCL, IPL y ONL mediante análisis de segmentación, dividiendo cada capa en 4 sectores, al igual que la medida anterior y como se puede observar en la Figura 1.

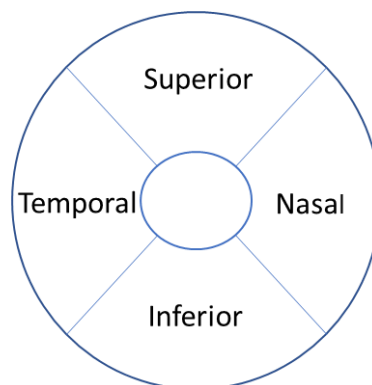


Figura 1: División en 4 sectores de las capas de la retina (GCL, IPL y ONL) en un ojo derecho

En cuanto al grosor de la capa RNFL, se registran 3 escáneres circulares. En este caso, se divide la capa en 6 sectores, como se observa en la Figura 2 (temporal superior, temporal, temporal inferior, nasal superior, nasal, nasal inferior), además de la media de todos estos sectores.

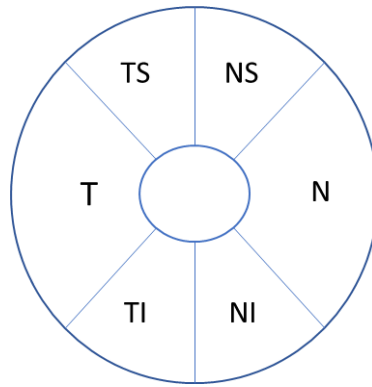


Figura 2: División en 6 sectores de la capa de la retina RNFL en un ojo derecho

Para la medida de BMO-MRW, la medida se centra en el nervio óptico y se realizan 24 escáneres radiales sobre un área de 15 grados. Se mide la distancia más corta de cada punto de la membrana de Bruch a la membrana limitante interna. Se realizan además un total de 3 escáneres circulares.

La medida de LC se realiza mediante un escáner vertical lo más cercano a la cabeza central del nervio óptico, donde tiene más visibilidad su superficie. La línea de referencia conecta los extremos de la BMO y 3 puntos equidistantes, inferior, central y superior que se unen a la superficie del tejido preliminar anterior y del LC anterior. Todo esto sirve para medir el grosor del tejido preliminar (PTT) y la profundidad de la superficie del LC anterior.

1.2.5. Resultados del estudio

Los resultados obtenidos al comparar pacientes con C-PiB PET/CT positivos y pacientes sanos se estudiaron mediante un análisis estadístico denominado prueba *T* de *Student*.

Las capas de la retina que habían sido medidas mostraron una diferencia significativa entre los distintos grupos de sujetos comparados. Sin embargo, tanto las medidas de BMO-MRW como las de LC no dieron un resultado estadístico significativo.

En la capa GCL se muestra una reducción significativa de su grosor del sector temporal al comparar casos MCI con HC, del sector superior al comparar casos AD con HC y de todas las regiones al comparar todos los casos patológicos con HC.

En la capa RNFL, comparando MCI con HC se muestra reducción del grosor en el cuadrante temporal, temporal inferior y en la media de todas las capas. Evaluando todos los casos patológicos con HC se reitera lo anterior, pero se añade una reducción del cuadrante temporal superior.

En la capa IPL se obtiene una reducción del espesor en la región superior y nasal al comparar los casos patológicos con HC y en todas las secciones en la comparación con AD. Sin embargo, los casos MCI no fueron relevantes.

En la capa ONL se obtiene una reducción en el sector superior tanto para los casos patológicos como solo MCI comparados con HC.

1.3. Objetivo

El objetivo principal de este trabajo es incrementar la información obtenida de un conjunto de datos obtenido de un estudio clínico que relaciona el Alzheimer con las capas retinianas. Para ello, se hará uso de una serie de técnicas estadísticas que permiten el estudio en profundidad de la relación entre dos poblaciones de datos, en este caso una población sana y otra patológica. Las técnicas utilizadas, pueden aplicarse a cualquier estudio de forma generalizada, con el objeto de reafirmar los resultados de forma matemática y facilitar su visualización.

Este trabajo se enmarca en el proyecto de investigación DAPatOO “Diagnóstico Automatizado de Patologías Oftalmológicas mediante OCT” (INNVAL 18/23) financiado por IDIVAL (Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla). El trabajo se centra en realizar un análisis estadístico pormenorizado de los resultados de un estudio previo realizado por diferentes autores del Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla [8]. El estudio de partida obtuvo medidas del grosor de las capas retinianas de personas en fase prodrómica de Alzheimer con el objetivo de establecer una serie de metodologías para la detección temprana de la enfermedad. Para ello, el estudio contaba con sujetos que padecen Alzheimer y deterioro cognitivo leve (MCI) que son comparados con sujetos sanos. Por las implicaciones en el diagnóstico precoz, este trabajo focalizará su interés en la optimización del diagnóstico de pacientes con deterioro cognitivo leve.

En este trabajo se analizan los resultados del estudio preliminar mediante técnicas estadísticas, de visualización de datos y de búsqueda de la combinación óptima de capas retinianas que faciliten la separabilidad de los resultados obtenidos, diferenciando de forma más eficaz entre casos patológicos y sanos.

Como objetivo principal del trabajo se buscará la capa o combinación de capas retinianas que faciliten el diagnóstico del deterioro cognitivo leve cuando se compara a estos pacientes con pacientes sanos. Para llevar a cabo este objetivo principal se han planteado los siguientes objetivos parciales:

- Realizar un **análisis estadístico descriptivo** del conjunto de medidas oftalmológicas evaluando técnicas como las métricas de separabilidad entre poblaciones sanas y enfermas, los diagramas de caja o *boxplots* y la aplicación de la prueba T de Student para comprobar la significancia de cada capa retiniana en el diagnóstico.
- Desarrollar y aplicar técnicas de **extracción de características**, en concreto el escalamiento multidimensional (MDS, *Multidimensional Scaling*) para descubrir si se puede encontrar una combinación lineal o no lineal de capas retinianas que permita optimizar la separación entre sujetos sanos y enfermos.
- Desarrollar y aplicar técnicas de **selección de características** para identificar la capa retiniana, y la combinación óptima de capas retinianas, que separan las poblaciones sana y enferma.

1.4. Estructura del documento

La estructura del documento está formada por las siguientes secciones.

En el capítulo I, tras contextualizar y definir los objetivos del trabajo, se hace un breve resumen del estudio previo ya mencionado, centrándose especialmente en las medidas retinianas realizadas y los resultados obtenidos.

El capítulo II se centra en las descripciones teóricas. Una primera parte se dedica a la explicación de los conceptos biológicos que aparecen en el trabajo. Por un lado, se describe el Alzheimer y el deterioro cognitivo leve, centrándose, además, en el método de diagnóstico utilizado en el estudio. También se describen las distintas partes que forman la retina y la técnica de imagen utilizada para realizar sus medidas.

El último apartado de ese capítulo consiste en la descripción de las técnicas estadísticas utilizadas para la visualización y extracción de información de los datos.

El capítulo III consiste en el desarrollo del trabajo. Se comienza con una explicación de los medios utilizados. A continuación, se explica el desarrollo de la aplicación de las diferentes técnicas estadísticas al conjunto de datos del que se dispone.

En último lugar, se realiza una explicación de los resultados obtenidos.

Para finalizar, el capítulo IV consiste en una conclusión del trabajo realizado y una discusión sobre las posibilidades futuras de este proyecto.

Capítulo II: Teoría y estado del arte

2.1. La enfermedad del Alzheimer

2.1.1. Alzheimer y el deterioro cognitivo leve

La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurológica que solo en España afecta a entre un 3 y un 4% de la población de entre 75 y 79 años, y hasta al 34% en mayores de 85 años [10]. Consiste en un trastorno degenerativo complejo que provoca la muerte de las células del cerebro, por lo que es incurable y terminal. Es la principal causa de la demencia que genera la disminución de las capacidades cognitivas y se manifiesta en el impedimento de las habilidades de pensamiento, de comportamiento y sociales.

Aunque el Alzheimer sea la principal causa de la demencia, entre un 60 al 80 % de los casos, no es la única [10]. Otros tipos de demencia incluyen: 1) la demencia vascular, asociada a los accidentes cerebrovasculares; 2) la demencia de los cuerpos de Lewy o 3) la demencia del lóbulo frontal. Además, otras enfermedades neurológicas como el Parkinson o la enfermedad de Huntington pueden acabar produciendo demencia.

Los cambios en el cerebro producidos por la enfermedad pueden llegar a comenzar incluso una década antes de la fase que se considera como demencia clínica y mucho antes de que aparezcan los síntomas. Estos cambios incluyen la aparición de placas de amiloides y ovillos neurofibrilares en el cerebro. La enfermedad empieza en el hipocampo y en la corteza entorrinal, partes del cerebro esenciales para la memoria (Figura 3), aunque una vez que se ha desarrollado, otras partes del cerebro también se ven afectadas [3]. Cuando las neuronas sanas se ven afectadas por estos cambios dejan de funcionar, pierden su conexión con otras neuronas y mueren. Se cree que muchos otros procesos complejos del cerebro causantes de la enfermedad están todavía por descubrir.

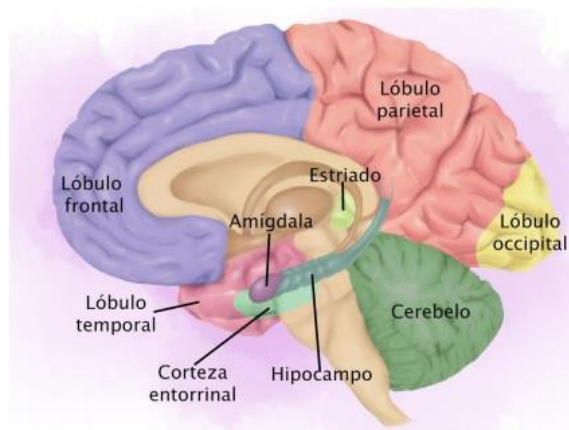


Figura 3: Esquema de las principales partes del cerebro humano [25].

En la actualidad, la enfermedad de Alzheimer se diagnostica después de una serie de evaluaciones y exámenes que descartan otras patologías. Éstas pueden incluir pruebas de capacidad cognitiva para la memoria y el pensamiento, entrevistas con los miembros de la familia, exámenes físicos y escáneres de imagen cerebral, como PET, CT o MRI, donde se detectan los cambios fisiológicos que se han producido en el cerebro del enfermo [3]. Sin embargo, ninguna de estas pruebas diagnostica realmente el Alzheimer. Por ahora, la enfermedad de Alzheimer sólo puede confirmarse oficialmente después de la muerte, examinando el tejido cerebral.

El deterioro cognitivo leve es una afección neurológica a la que se considera la fase prodrómica del Alzheimer y otros tipos de demencia. La fase prodrómica de una

enfermedad el periodo en el que comienzan los primeros síntomas previos al desarrollo de esa enfermedad. La sociedad española de neurología estima que alrededor del 15% de la población mayor de 65 años padece deterioro cognitivo leve y que, en el 50% de los casos, se debe a la enfermedad de Alzheimer [8].

El MCI es una fase en la que se observan problemas cognitivos, pero no discapacidad funcional. La persona que tiene MCI presenta más problemas de memoria que la mayoría de gente de su edad, pero esto no afecta de forma grave a su vida diaria. Esto no significa que todas las personas que tengan MCI desarrollen más adelante Alzheimer, solo que tienen más riesgo de padecerla, aunque puedan incluso regresar a un estado cognitivo normal.

Es cuando una persona se encuentre en esta fase previa a la enfermedad, la del deterioro cognitivo leve, cuando sería deseable poder diagnosticarlo. Sin embargo, resulta difícil debido a que los primeros síntomas varían mucho entre pacientes. En algunos casos puede afectar a otros problemas cognitivos que no sean la memoria como la expresión oral, problemas de visión, razonamiento o juicio. Es por ello por lo que se estudian biomarcadores para una detección temprana del Alzheimer, como los que se basan en la anatomía de la retina y las capas de tejido que la conforman, para facilitar esa detección temprana.

2.1.2. Tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada

La tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada (PET/CT) es una técnica de medicina nuclear que combina en un mismo sistema, un escáner PET y un escáner de rayos X CT. Esta combinación permite adquirir imágenes secuenciales de ambos dispositivos a la vez, que se acoplan en una sola imagen superpuesta. De esta forma, se une la imagen obtenida de un PET que muestra la distribución de la actividad metabólica o bioquímica del cuerpo y la imagen anatómica proporcionada por el escáner CT. Esta tecnología ha revolucionado el diagnóstico médico en muchos campos al proporcionar dos dispositivos en uno. Se utiliza para el diagnóstico de diversas patologías, siendo una de ellas las anomalías cerebrales.

La tomografía por emisión de positrones es una técnica no invasiva de diagnóstico por imagen *in vivo* capaz de medir la actividad metabólica del cuerpo humano mediante un escáner que detecta radiación. Obtiene información funcional, es decir, información sobre dónde y cómo está teniendo lugar un determinado proceso metabólico dentro del organismo. Más concretamente, el PET se basa en detectar la distribución que adopta un radiofármaco en el interior del cuerpo que es administrado por vía intravenosa. Los radiofármacos varían según lo que se desee estudiar y poseen una vida media muy corta.

En cuanto a la tomografía computarizada, es el procedimiento por el cual se obtienen múltiples imágenes del cuerpo mediante rayos X. Genera una gran cantidad de imágenes del cuerpo debido a que tanto la fuente de rayos X como los detectores de radiación rotan entorno a ese cuerpo. La representación final de la imagen tomográfica se obtiene mediante la captura de las señales por los detectores y su posterior procesamiento mediante algoritmos de reconstrucción.

2.1.3. 11C-PiB para detectar β -amiloide

Esta técnica se utiliza en el estudio preliminar para el diagnóstico de patologías neurológicas y se conoce como ^{11}C -PiB PET/CT. En los últimos años se ha impuesto el uso de esta técnica de imagen en el Servicio de Medicina Nuclear del HUMV para la detección de enfermedades en pacientes con MCI.

En este Servicio se ha estudiado como el depósito cortical cerebral de proteína β -amiloide puede ser el biomarcador que origina los cambios que conducen a la degeneración cerebral de la enfermedad de Alzheimer [11]. Un biomarcador es una molécula biológica que se encuentra en la sangre o en otros líquidos o tejidos del cuerpo y que es un signo de un proceso normal o anormal, o de una enfermedad. En los pacientes con Alzheimer se forman depósitos de β -amiloide a los que se les llama placas seniles. Se originan de la división secuencial del precursor proteico amiloide (APP, *Amyloid Precursor Protein*), una glicoproteína transmembrana con una función indeterminada, formando isoformas de 36 a 46 aminoácidos. Las isoformas más comunes son A β 40 y A β 42, siendo los depósitos de proteína amiloide extracelular β (A β) formados por 42 aminoácidos el biomarcador establecido para la enfermedad del Alzheimer [11].

Esos fenómenos anormales en el cerebro se monitorizan *in vivo* gracias al desarrollo de radiofármacos o radiotrazadores para β -amiloide, entre los que destaca el compuesto B de Pittsburgh marcado con Carbono 11 (^{11}C -PiB).

El compuesto de Pittsburgh B (PiB) es un análogo radiactivo de tioflavina T que se puede usar como trazador radioactivo en escáneres PET para producir imágenes de placas β -amiloide en el tejido neuronal. Cuando se introduce ^{11}C -PiB en un sujeto, el compuesto se liga de forma muy efectiva a las estructuras fibrilares de A β que se encuentran agrupadas en placas densas [12]. En particular, se liga a las fibrillas A β 40 y A β 42, siendo esta última, como ya se ha mencionado, el biomarcador del Alzheimer. La cuantificación de ^{11}C -PiB ha demostrado una gran diferencia en la unión neuronal cortical entre individuos con Alzheimer e individuos cognitivamente normales de su misma edad.

Otros ejemplos de biomarcadores que también se han tenido en cuenta en el estudio son la atrofia cortical que aparece en las imágenes por resonancia magnética (MRI) y el aumento de T-tau y P-tau que aparece en el PET/CT. T-tau y P-tau son tipos de proteínas tau. La proteína tau es muy abundante en el sistema nervioso central y se encarga de vincular microtúbulos que son estructuras celulares cuya función es estabilizar el citoesqueleto neuronal. La T-tau es la proteína tau sin modificar y P-tau es esa proteína tras sufrir una modificación denominada fosforilación.

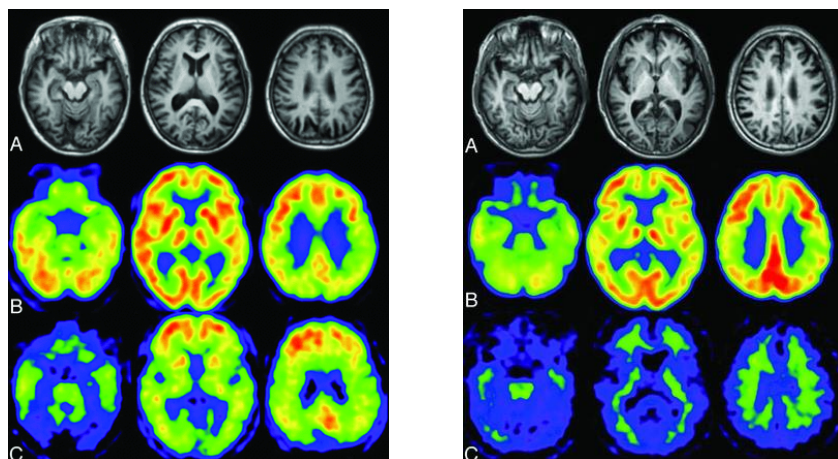


Figura 4: Imagen obtenida mediante tomografía por emisión de positrones. A la izquierda un cerebro con Alzheimer y a la derecha un cerebro sano [26].

En la Figura 4, se observan las imágenes obtenidas tras realizar un PET cerebral a dos pacientes de edades muy similares, uno con Alzheimer y otro sano, identificados mediante un examen mental. La imagen obtenida mediante PET permite visualizar la información metabólica del cerebro. Es así como se pueden ver varios biomarcadores de la enfermedad del Alzheimer en la imagen de la izquierda. En primer lugar, el metabolismo de la glucosa se ve reducido en el área pario temporal. Además, hay acumulaciones de C-PiB en la mayoría del córtex cerebral. Esas acumulaciones son altas en el área frontal, un indicativo de positividad en depósitos de amiloide. En cuanto al otro sujeto, en la imagen de la derecha no observa una reducción del metabolismo ni claras acumulaciones de PiB.

2.2. La retina

2.2.1. El ojo y la retina

La retina es la capa más interna del globo ocular que se encuentra ubicada cubriendo su parte posterior. La retina es un tejido fino y transparente que es más grueso cerca del nervio óptico donde mide aproximadamente 0,56 mm. Este grosor se reduce a 0,2 mm en la zona denominada fovea y a 0,1 mm en la zona denominada ora serrata [13].

Su composición es tejido nervioso que capta la luz y la convierte en un impulso, haciendo uso de células denominadas fotorreceptores. Cada fotorreceptor está unido a una fibra nerviosa que se agrupan dentro del nervio óptico, encargado de transmitir los impulsos nerviosos al cerebro. Antes de llegar al nervio óptico la información captada por la retina atraviesa sus capas mediante complejos procesos que se llevan a cabo en las células que las forman.

Existen dos tipos de fotorreceptores, bastones y conos. La retina tiene 120 millones de bastones y alrededor de 1 millón de conos. Los conos se encuentran agrupados principalmente en la mácula y son los responsables de la visión central y del color. Los bastones se agrupan principalmente en las partes periféricas de la retina y son responsables de la visión nocturna y periférica.

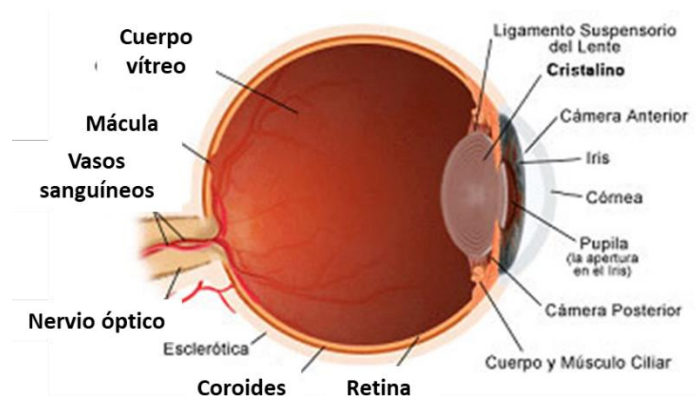


Figura 5: Partes principales del globo ocular [27].

La retina está situada entre la coroides y el humor vítreo. La coroides es una membrana de unos 0,15 mm de grosor que contiene una gran cantidad de vasos sanguíneos y células epiteliales pigmentadas y se encarga de proveer a la retina de oxígeno y sangre. También se encarga de mantener una temperatura correcta en la retina mediante el flujo sanguíneo.

La coroides forma parte de la úvea, que incluye el iris y el cuerpo ciliar. Una de las capas más importantes de la coroides es la membrana de Bruch que está compuesta por dos capas de colágeno. El borde de la membrana de Bruch (BMO, *Bruch's Membrane Opening*) representa la apertura por la que salen los axones de las células ganglionares de la retina hacia el nervio óptico. Por lo tanto, se utiliza como parámetro para definir la frontera del disco óptico, especialmente cuando se utilizan imágenes obtenidas con dispositivos de tomografía de coherencia óptica. La distancia mínima desde BMO a la membrana limitante interna se utiliza para determinar la cantidad de tejido alrededor de la circunferencia del nervio. Por lo tanto, BMO-grosor mínimo del anillo (BMO-MRW) es una representación geométrica y anatómica precisa de la anchura del anillo neuro retiniano en cada punto sobre el nervio.

El humor vítreo es una estructura transparente y gelatinosa que llena la cavidad vítrea del globo ocular, dándole a éste su forma. Es esférico en la parte posterior y con forma de platillo en la parte anterior debido a la depresión causada por el cristalino. Está compuesto principalmente de agua, aunque también contiene colágeno, ácido hialurónico y múltiples proteínas. Se encarga de mantener fija la estructura del ojo, proteger a otras estructuras del ojo de traumatismos, entre ellas la retina, y mantener la presión intraocular necesaria en el globo ocular.

2.2.1.1. Estructura macroscópica de la retina

Con respecto a su estructura macroscópica, la retina se puede dividir en varias zonas principales tal y como se puede ver en la Figura 6

- La **mácula** es la responsable de la visión central. Se localiza en la parte central de la retina con un diámetro de 5 mm aproximadamente. Esta área retina no contiene bastones, sólo conos. En su centro se ubica la fovea con unos 1,5 mm de diámetro, donde se encuentra la mayor concentración de conos, siendo la parte de la retina que genera mayor agudeza visual.
- La **papila** es una zona circular donde confluyen las fibras nerviosas de la retina para formar el nervio óptico. Es una zona que no posee sensibilidad a la luz porque carece de fotorreceptores y es por lo que se le denomina punto ciego.
- La **ora serrata** es el área con forma de sierra que se encuentra entre la retina y el cuerpo ciliar por lo que está en la zona más periférica y anterior de la retina. Marca la transición de la zona fotosensible de la retina a la no fotosensible. Tiene 2,1 mm de ancho en la zona temporal y 0,8 mm de ancho en la zona nasal [13].

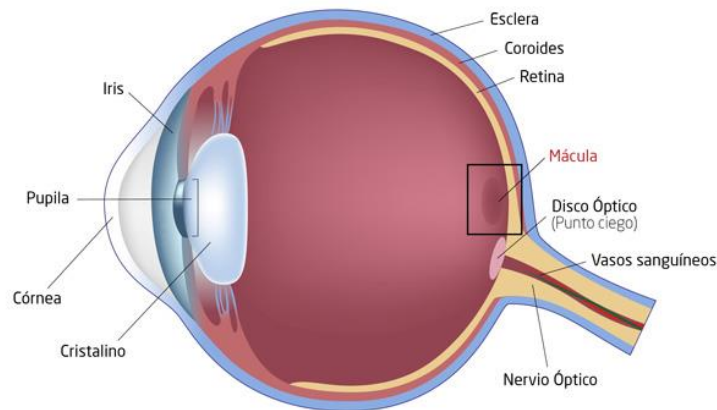


Figura 6: Estructura de la retina dentro del ojo [28].

2.2.1.2. Estructura microscópica de la retina

La retina se puede dividir en 10 capas contiguas unidas entre ellas por conexiones sinápticas entre axones y dendritas de células. Cada una de estas capas [14] contiene distintos tipos de células, según cual sea su función en el proceso de captación de información y su transmisión hasta el nervio óptico. Estas capas, enumeradas de la más interna a la más superficial son:

- 1) Membrana limitante interna (ILM, *Inner Limiting Membrane*).
- 2) Capa de fibras del nervio óptico (RNFL, *Retinal Nerve Fiber Layer*).
- 3) Capa de células ganglionares (GCL, *Ganglion Cell Layer*).
- 4) Capa plexiforme interna (IPL, *Inner Plexiform Layer*).
- 5) Capa nuclear o granular interna (INL, *Inner Nuclear Layer*).
- 6) Capa plexiforme externa (OPL, *Outer Plexiform Layer*).
- 7) Capa nuclear o granular externa (ONL, *Outer Nuclear Layer*).
- 8) Capa limitante externa (OLM, *Outer Limiting Membrane*).
- 9) Capa de células fotorreceptoras (PL, *Photoreceptor Layer*).
- 10) Epitelio pigmentario (RPE, *Retinal Pigment Epithelium*).

En este caso, nos vamos a centrar en describir las capas que se incluyen en el estudio que se muestran en la Figura 7.

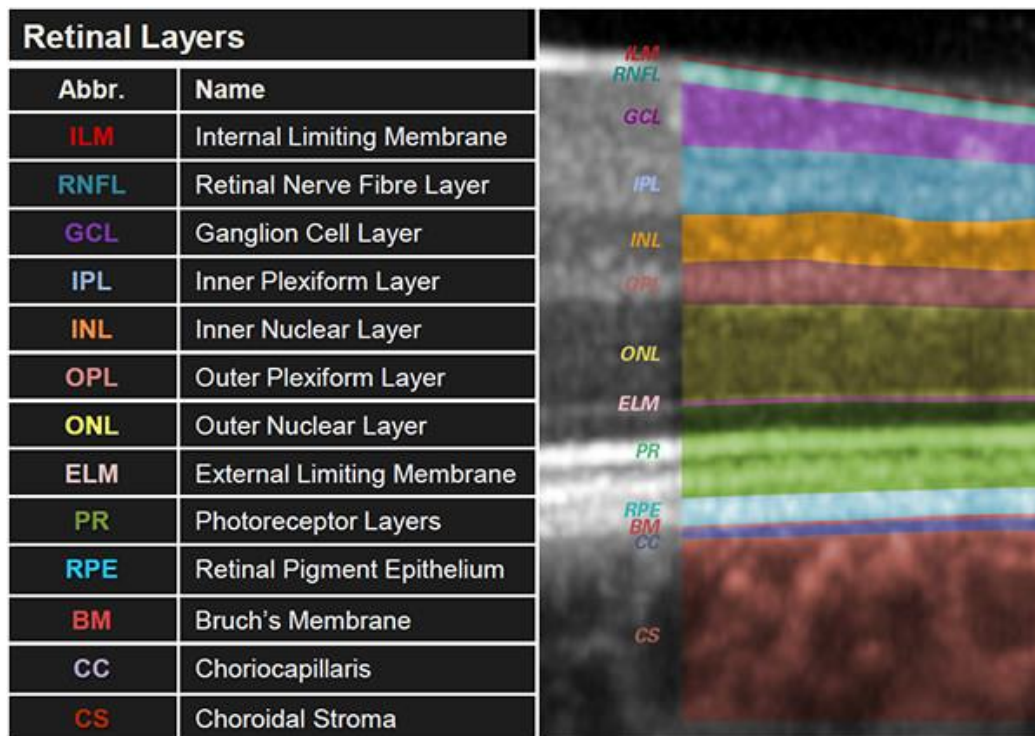


Figura 7: Las 10 capas en las que se divide la retina [29].

RNFL, Capa de fibras del nervio óptico: está formada por los axones de células ganglionares consideradas como la expansión de las fibras del nervio óptico. Esta capa es más gruesa entorno al disco óptico y se afina hacia la ora serrata. A medida que las fibras nerviosas atraviesan la lámina cribosa (lámina que forma parte del hueso etmoides del cráneo), pierden sus vainas medulares y continúan a través de la coroides y la retina como cilindros de un solo eje. La mayoría de las fibras son la continuación directa de los procesos eje-cilíndricos de las células de la capa ganglionar. Algunas de sus ramificaciones llegan a alcanzar las capas internas plexiforme y nuclear donde acaban. La RNFL es una estructura muy sensible. Adelgaza con la edad y con mala agudeza visual, además de otras causas como la retinitis. Algún proceso como presión intraocular, inflamación, enfermedad vascular, entre otras, pueden provocar su daño.

GCL, Capa de células ganglionares: es la capa que sigue a la RNFL. Está formada por los núcleos de las células ganglionares, como su propio nombre indica, además de alguna célula amacrina. Las células ganglionares son las que mandan la información ya codificada hacia el sistema nervioso central a través del nervio óptico. Tienen forma de frasco, es decir, la superficie interna redondeada de cada una de ellas se alarga hasta formar un axón. Esos axones son los que forman parte de la capa de fibras nerviosas de la retina y los que conectan con el nervio óptico, siendo la primera sinapsis de la vía vertical de la retina. En el extremo opuesto, numerosas dendritas se extienden hacia la capa plexiforme interna. Como las células ganglionares varían muchos en tamaño, las dendritas de las más grandes se ramifican hasta llegar incluso a la capa nuclear interna.

IPL, Capa plexiforme interna: es una capa compuesta de un denso retículo de fibrillas formado por las dendritas entrelazadas de las células ganglionares y de las células de la capa nuclear interna. Es la región de conexión sináptica entre células bipolares, amacrinas y ganglionares. Las células bipolares son de forma ovalada y las más numerosas de la capa. Son divisibles en bipolares de bastones y bipolares de cono. Las

células bipolares de bastones realizan procesos externos, ya que terminan en la capa plexiforme externa en mechones de fibrillas alrededor de los gránulos de bastones. Los procesos internos de las bipolares de cono consisten en la ramificación de sus axones en la capa plexiforme interna que entran en contacto con las dendritas de las células ganglionares. Además, a este nivel, concretamente en la parte interna de la capa, terminan gran cantidad de prolongaciones de las células amacrinas, que toman información eléctrica de las células fotorreceptoras y tras modular esa información, la pasan a las células ganglionares mediante una extensa ramificación de sus dendritas.

ONL, Capa nuclear externa: la capa nuclear externa de la retina contiene, al igual que la capa nuclear interna, varios estratos de cuerpos nucleares ovalados que son los cuerpos celulares de las células fotorreceptoras. Hay dos tipos, gránulos de conos y gránulos bastones, respectivamente unidos a los conos y bastones de la siguiente capa. También contiene los procesos de las neuronas de segundo orden, cuyos cuerpos celulares yacen en la capa nuclear interna. Estos procesos realizan sinapsis entre ellos y con las células de las capas contiguas a la ONL.

El razonamiento por el que se han escogido las capas descritas en este apartado como las más relevantes para el estudio es que son las más cercanas al nervio óptico y, por lo tanto, las que tienen una mayor relación con los procesos que ocurren en el cerebro. Como se ha mencionado, la capa RNFL está compuesta por las fibras nerviosas que forman el nervio óptico y en ella se produce una sinapsis con las células ganglionares que forman la GCL. Las dendritas de esas células ganglionares llegan hasta la capa plexiforme interna y pueden llegar a alcanzar incluso la capa nuclear interna. Sin embargo, la capa nuclear externa tiene una conexión muy lejana al nervio óptico, a través de numerosas capas y conexiones sinápticas entre distintas células, por lo tanto, se espera que no tenga unos resultados tan relevantes en el estudio como el resto de las capas incluidas.

2.2.2. Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica de imagen no invasiva utilizada para obtener imágenes transversales y volumétricas de alta resolución en el ámbito clínico y biológico. Es un método ampliamente utilizado debido a que proporciona imágenes de estructuras a escalas muy pequeñas y en tiempo real.

Su funcionamiento consiste en la obtención de información de la luz reflejada por un área de estudio tras haber incidido en ella. Esta información varía dependiendo del tipo de OCT que se use. La primera tecnología desarrollada fue OCT en el dominio del tiempo (TD-OCT, *Time Domain-OCT*) que obtenía el tiempo de retardo de la luz reflejada. Hoy en día el mercado de OCT en oftalmología está dominado principalmente por los sistemas en el dominio espectral (SD-OCT, *Spectral Domain-OCT*).

La configuración SD-OCT proporciona imágenes de ultra alta resolución y ultra alta velocidad. SD-OCT usa como fuente de luz un diodo láser de gran ancho de banda y baja coherencia que se divide en dos brazos separados por un espejo reflectante denominado divisor de haz. El primer brazo proyecta la luz hacia la zona de muestreo y el segundo la proyecta hacia un espejo de referencia. La luz dispersa de ambos haces llega a un espectrómetro que las recombina para formar un patrón de interferencias. La frecuencia de esa luz se analiza realizando la transformada inversa de Fourier cuyo resultado proporciona un interferograma que refleja la aparición de eventos de dispersión cada vez que cambia la composición y microestructura de un tejido,

permitiendo así calcular las distancias y grosores de cada una de las capas del tejido microscópico estudiado. Las diferencias en las propiedades de los tejidos biológicos del área permiten reconocer esas distintas estructuras en la imagen obtenida.

Los parámetros típicos que se usan para caracterizar la tecnología OCT son la longitud de onda de la fuente de luz, la resolución axial y transversal, la velocidad de escaneo y la profundidad de imagen.

La tecnología SD permite la adquisición de información de todos los puntos de un escáner o medida axial (A-scan) simultáneamente a una velocidad de escaneo de 25000 a 100000 escáneres por segundo en equipos comerciales. También se generan escáneres o imágenes transversales (B-scan) mediante la concatenación de medidas axiales obtenidas en posiciones contiguas y adyacentes de forma rápida y continua. Adquiriendo imágenes transversales de forma rápida se puede crear conjuntos de datos tridimensionales 3D (C-scan), permitiendo análisis avanzados de un área completa sobre el tejido. El amplio ancho de banda de la fuente de luz facilita una resolución axial de 3–6 μm en sistemas comerciales, que es hasta dos veces más alta que en otras técnicas de imagen como resonancia magnética o ultrasonido [15]

Sin embargo, la tomografía óptica de coherencia está limitada por poder utilizarse sólo en localizaciones que sean ópticamente accesibles o puedan ser alcanzadas por endoscopios o catéteres. El ojo, siendo el órgano más accesible ópticamente y cuya composición presenta baja absorción, es una estructura perfecta para este tipo de tecnología.

En el caso del estudio, se utiliza el equipo SD-OCT *Spectralis* fabricado por *Heidelberg Engineering* que es un equipo clínico ubicado en el Servicio de Oftalmología del HUMV. Las características ópticas de este equipo son: La longitud de onda de la fuente de luz láser se encuentra entre 820 y 870 nm. La velocidad de escaneo axial es de 40000 escaneos/segundo. En cuanto a la resolución en tejido, la axial es de 3,9 μm (digital) y la transversal es de 14 μm . Por último, la profundidad de escaneo alcanza 1.9 mm.

2.3. Técnicas estadísticas

2.3.1. Introducción

Habitualmente en un proceso de investigación científico es necesario el uso de la estadística con el fin de obtener información basada en la observación y experimentación. Por lo tanto, las técnicas estadísticas son útiles en una gran variedad de ciencias, entre ellas las ciencias de la salud.

En investigación médica, la estadística se usa para el análisis de datos y su visualización en tablas y gráficas que ayudan a interpretar los resultados obtenidos y a explicar su grado de confianza con diferentes objetivos como el de generalizar los resultados a toda una población y el poder realizar predicciones para el futuro.

La cantidad de datos obtenidos de casos clínicos generalmente suele ser escasa y difícil y costosa de obtener. Es por ello por lo que la validez y relevancia de los resultados obtenidos en un estudio de este tipo deben ser evaluados con un análisis estadístico apropiado.

Se puede considerar que la estadística se divide en dos áreas principales:

- La **estadística descriptiva** que se centra en la visualización y explicación de los datos obtenidos en un estudio con el objetivo de facilitar su interpretación mediante

la representación por gráficas, tablas y variables numéricas calculadas a partir de los datos. Un ejemplo de este tipo de estadística son la mediana, la varianza, los histogramas, los diagramas de caja o los cálculos de ajustes a distribuciones específicas.

- La **estadística inferencial** que genera modelos y predicciones asociadas a los fenómenos que forman parte de una serie de observaciones. Su utiliza como modelo de patrón de datos para obtener conclusiones sobre una población bajo estudio a partir de una muestra y el grado de fiabilidad de los resultados obtenidos. Un ejemplo de este tipo de estadística es la selección de características o modelos de relación entre variables, como el escalamiento multidimensional.

2.3.2. Diagramas de caja

Los diagramas de caja, también conocidos como diagramas de bigotes o *boxplots*, son un método estandarizado de representación gráfica de datos. Describen visualmente ciertas características de un conjunto de datos mediante una gráfica que incluye los valores mínimo y máximo del conjunto y su mediana.

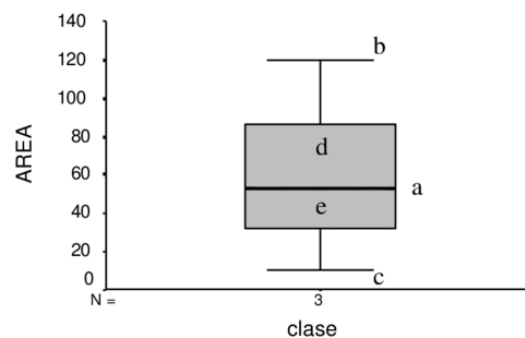


Figura 8: Estructura de un diagrama de cajas.

En la Figura 8, aparece una caja rectangular dividida por un segmento que representa a la mediana (a) y los dos fragmentos en los que se divide son los cuartiles. El cuartil superior (d) es el 75 % de los datos y el cuartil inferior (e) el 25%.

El valor máximo(b) y el valor mínimo (c) aparecen representados como dos segmentos o bigotes paralelos a la mediana. Finalmente, los valores atípicos del conjunto se representan como puntos individuales.

En resumen, los diagramas de cajas son una técnica similar a los histogramas y resultan muy útiles en la comparación de dos o más conjuntos de datos.

2.3.3. Prueba *t* de Student

La prueba *t* de Student o Test-T es un tipo de prueba estadística deductiva utilizada para determinar si existe una diferencia significativa entre las medias de dos grupos. Se aplica cuando una población tiene pocas muestras y sigue una distribución normal, obteniéndose una estimación de la desviación típica en vez del valor real.

Esta prueba se puede realizar para una sola muestra, dos muestras independientes y dos muestras dependientes. Las pruebas *t* de muestras independientes se utilizan cuando se tiene dos grupos de muestras aleatorias e independientes a partir de dos

poblaciones comparadas. Si las dos poblaciones estudiadas poseen varianzas distintas, la prueba también es conocida como prueba *t* de *Welch* [16].

Las ecuaciones utilizadas en la prueba *t* de Welch son las siguientes [16]:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{x_1 x_2} \sqrt{\frac{2}{n}}} \quad (1)$$

$$S_{x_1 x_2} = \sqrt{\frac{1}{2}(S_{x_1}^2 + S_{x_2}^2)} \quad (2)$$

Donde (1) es un valor estadístico *t* y (2) es la desviación estándar combinada $S_{x_1 x_2}$; $S_{x_i}^2$ el cuadrado de la desviación típica con *i* igual a 1 o 2; y *n* es el número de muestras.

El valor *t* es un valor estadístico perteneciente a una tabla que, según los grados de libertad (*n*-1), indica si la hipótesis es nula. La hipótesis nula nos indica que los datos provienen de distribuciones con medias iguales y la hipótesis alternativa, señala que los datos provienen de poblaciones con medias desiguales. Una vez que se ha determinado un valor *t*, se encuentra un valor *p* asociado mediante la tabla de valores de distribución *t* de Student. Si el valor *p* obtenido de la tabla, es menor al límite elegido por significancia estadística (normalmente 0,05 o 0,01), entonces la hipótesis nula se rechaza en favor de la hipótesis alternativa.

2.3.4. Métricas de distancias

La métrica es una función que define la distancia entre pares de elementos de un conjunto de datos. En este proyecto se aplicarán métricas para evaluar distancias entre distribuciones estadísticas formadas por los puntos muestreados o medidos. Así, cada distribución de probabilidad recoge la distribución que siguen los grosores de una capa retiniana específica. Si se contemplan dos distribuciones de probabilidad, una corresponderá a la población enferma y otra a la población sana.

2.3.4.1. Distancia de Mahalanobis

La distancia de Mahalanobis es una métrica que se utiliza para determinar la similitud entre dos variables aleatorias multidimensionales. A diferencia de la distancia euclídea, tiene en cuenta la correlación de las variables aleatorias.

La distancia de Mahalanobis entre dos variables aleatorias con distribuciones de probabilidad \vec{x} , \vec{y} , se define como [17]:

$$D_{\text{mahal}}(\vec{x}, \vec{y}) = \sqrt{(\vec{x} - \vec{y})^T \Sigma^{-1} (\vec{x} - \vec{y})} \quad (3)$$

donde Σ es la matriz de covarianza de las variables aleatorias.

Cuando las variables aleatorias siguen una distribución normal, la distancia de Mahalanobis se calcula de la siguiente forma [18]:

$$D_{\text{mahal}}(x, y) = \sqrt{\frac{\{\mu_x - \mu_y\}^2}{\sigma_x^2 + \sigma_y^2}} \quad (4)$$

donde μ_x, μ_y son la media de las variables aleatorias y σ_x^2, σ_y^2 son su varianza.

2.3.4.2. Distancia de Bhattacharyya

La distancia de Bhattacharyya mide la similitud entre dos distribuciones de probabilidad. Se considera más fiable que la distancia de Mahalanobis, ya que esta última es un caso particular de la distancia de Bhattacharyya en el que las desviaciones estándar de las dos clases son las mismas [21].

La distancia de Bhattacharyya de dos clases con distribuciones de probabilidad discretas es [19]:

$$D_B(p, q) = \ln(B_C(p, q)) \quad (5)$$

$$\text{donde } B_C = \sum_{x \in X} \sqrt{p(x)q(x)} \quad (6)$$

La distancia de Bhattacharyya para dos clases con distribuciones de probabilidad normal x, y , es [21]:

$$D_B(x, y) = \frac{1}{4} \ln \left(\frac{1}{4} \left(\frac{\sigma_x^2}{\sigma_y^2} + \frac{\sigma_y^2}{\sigma_x^2} + 2 \right) \right) + \frac{1}{4} \left(\frac{(\mu_x + \mu_y)^2}{\sigma_x^2 + \sigma_y^2} \right) \quad (7)$$

siendo σ_x^2, σ_y^2 las varianzas y μ_x, μ_y las medias de las distribuciones.

2.3.5. Escalamiento multidimensional (MDS)

El escalamiento multidimensional es un conjunto de técnicas estadísticas para la visualización y exploración de datos procedentes de múltiples dimensiones. En este caso, cada dimensión sería el valor del grosor de cada capa retiniana. Cada medida de un ojo tendría tantas dimensiones como número de capas retinianas medidas.

Es una forma de observar el nivel de similitud entre conjuntos de objetos (en este caso, ojos), traduciendo la información de la distancia por parejas en un conjunto de n objetos y transformándola en una configuración de n puntos mapeados en un espacio cartesiano abstracto. Los objetos que son más similares se encuentran más cercanos en su representación gráfica, lo que permite observar fácilmente si hay la separabilidad entre distintos conjuntos de datos y con ello capacidad de diferenciación diagnóstica.

El algoritmo se basa en que dos puntos cercanos en un espacio de dimensión muy alta también lo están en un espacio de dimensión baja. El escalamiento se considera multidimensional porque no está limitado a datos bidimensionales, sino que se puede escalar un conjunto de datos de múltiples variables. Se utiliza en muchas disciplinas y no se limita su uso a una matriz específica, ya que se puede aplicar prácticamente a cualquier matriz cuyos datos tengan cierta relación.

Existen dos tipos de escalamiento: escalamiento multidimensional métrico o clásico (CMDS, *Classical Multidimensional Scaling*) y escalamiento multidimensional no métrico (NMDS, *Non-Metric Multidimensional Scaling*).

2.3.5.1. Escalamiento multidimensional métrico o clásico

El CMDS intenta reproducir las métricas o distancias originales. Para ello, toma como parámetro de entrada una matriz de distancias entre parejas de datos. En el caso de escalamiento multidimensional clásico esas distancias deben ser euclidianas [20]. Tras aplicar el algoritmo se obtiene una matriz de coordenadas cuya configuración minimiza la función de pérdidas que para el caso clásico se denomina *strain*. Los pasos que sigue el algoritmo son los siguientes [20]:

1. Dada una matriz D de distancias de un conjunto de puntos se obtiene su cuadrado $D^2 = [d_{ij}^2]$, donde

$$d_{ij}^2 = \sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2$$

Siendo p la dimensión del espacio euclídeo en el que se encuentra un conjunto de n puntos.

2. A continuación, se calcula la matriz de centrado $J = I - \frac{1}{n}W$, donde n es el número de objetos y W es una matriz cuadrada $n \times n$ de unos.
3. Utilizando la matriz de centrado se aplica doble centrado a la matriz de distancias cuadrada $B = \frac{1}{2}JD^2J$.
4. Se determinan los vectores propios $(e_1, e_2 \dots e_m)$ y autovalores $(\lambda_1, \lambda_2 \dots \lambda_m)$, siendo m la dimensión deseada para la matriz de coordenadas X , que es la matriz obtenida tras realizar el escalamiento.
5. Por último, se obtiene la matriz de coordenadas $X = E_m \Delta_m^{\frac{1}{2}}$, siendo E_m la matriz de m vectores propios y Δ_m la matriz diagonal de m autovalores de B .

2.3.5.2. Escalamiento multidimensional no métrico

En escalamiento multidimensional no métrico, el algoritmo asume que sólo se conocen los rangos de las distancias e intenta reproducir esos rangos en una representación gráfica. Encuentra una relación monótonica y no paramétrica entre las disimilitudes de la matriz valor a valor. La relación se suele encontrar utilizando regresión isotónica. En estadística, la regresión isotónica o monótonica es la técnica de ajuste de una línea de forma libre a una secuencia de observaciones para que la línea ajustada sea no decreciente y lo más cercana posible a las observaciones. La x denota el vector de proximidad, $f(x)$ es la transformación monótonica de x y d_{ij} son las distancias obtenidas del conjunto de datos x . Con todo esto se obtiene la matriz de coordenadas que minimiza el *stress* [21].

La bondad de ajuste es una expresión necesaria en cualquier problema de análisis de datos para expresar cómo de bien se representa un conjunto de datos por el modelo que impone el análisis. En MDS para definir la bondad de ajuste se utiliza una función de pérdidas denominada *stress* que mide la diferencia entre la matriz de disimilitudes y la estimada utilizando una o más dimensiones de estímulo. Cuanto menor sea el valor de *stress*, mayor es el ajuste y más correcta es la aplicación del algoritmo. Para que éste se considere aplicado de forma correcta, el valor del *stress* no debe ser superior a 0,2.

En NNMDS el *stress* se calcula como [21]:

$$stress = \sqrt{\frac{\sum (f(x) - d_{ij})^2}{\sum d}} \quad (6)$$

En CMDS al *stress* se le conoce como *strain* y se obtiene de la siguiente forma:

$$strain = \sqrt{\frac{\sum_{i,j} (b_{i,j} - \langle x_i, x_j \rangle)^2}{\sum_{i,j} b_{i,j}^2}} \quad (7)$$

Aunque el algoritmo para el caso del escalamiento métrico sea más simple, ambos suelen tener resultados similares si se aplican a ejemplos conocidos. Sin embargo, cuando se tienen datos de distancias reales, el método clásico funciona mejor como solución directa.

2.3.6. Algoritmo *ReliefF*

ReliefF es una técnica de selección de características en un conjunto de datos donde solo una parte de las variables son verdaderamente relevantes. El resto de las variables se pueden considerar irrelevantes, aunque cuáles son esas variables resulte indistinguible a priori. Las variables irrelevantes no son informativas, pero contribuyen a la dimensionalidad total del problema. La selección de características se define como el proceso de identificación de esas variables relevantes y el descarte de las irrelevantes.

El algoritmo de *Relief* original fue creado como un método de selección mediante filtrado de variables evaluadas individualmente. *ReliefF* calcula una estadística proxy (medida que aislada no tiene interés, pero permite obtener otras de mayor utilidad) para cada variable. Esa estadística proxy se utiliza para estimar la relevancia de una variable dentro del objetivo del problema. Las estadísticas se traducen en los pesos de las variables que pueden variar de -1 a +1.

El funcionamiento del algoritmo *Relief* original es el siguiente [22]:

1. *Relief* realiza un barrido a través de m casos de prueba aleatorios definidos por el usuario. Cada caso de prueba aleatorio se denomina R_i .
2. En cada ciclo, el caso objeto R_i y el vector de puntuación de variables W (las variables en este caso se corresponderían al grosor de cada capa retiniana) se actualizan en función de las diferencias de valor observadas entre el caso R_i y los casos vecinos. *Relief* identifica los dos casos vecinos más cercanos del caso objeto, uno de la misma clase (H o *hit*) y otro de la clase opuesta (M o *miss*).
3. El último paso del ciclo es actualizar el peso de una variable denominada A , perteneciente al vector W , dependiendo de la diferencia de valor entre R_i y los casos vecinos. Las variables que tienen un valor diferente entre R_i y M apoyan la hipótesis de que son informativas para el resultado, así que el vector de puntuación de variables $W[A]$ incrementa. Variables contrarias, es decir, que tienen un valor igual entre R_i y H , proveen evidencia de lo contrario, por lo que $W[A]$ decrece. Además, se normalizan los datos para asegurar que los pesos actualizados tengan un valor entre 0 y 1. Una vez se obtienen todos los pesos se vuelve a normalizar para que el intervalo de los pesos sea: [-1, 1].

Esta técnica fue evolucionando hacia otras más desarrolladas. Hoy en día, *Relief* ha sido sustituido totalmente por *ReliefF* (variable mejor conocida). La F se refiere a la sexta variación del algoritmo (de la A a la F).

ReliefF se basa en la evaluación de un número finito de vecinos (k). Este parámetro está definido por el usuario y especifica el uso de los k aciertos más cercanos y los k fallos más cercanos en la actualización de la puntuación de cada caso objeto R_i . En conclusión, en lugar de comparar cada caso aleatorio con sus dos vecinos más cercanos, en este algoritmo se aumenta el número de vecinos a criterio del usuario. Este cambio incrementó la fiabilidad del peso estimado. Como número de vecinos óptimo [16] se sugirió $k = 10$ basándose en pruebas empíricas preliminares y ha sido impuesto como parámetro por defecto de forma genérica.

Capítulo III: Desarrollo y procedimiento

3.1. Material utilizado

En este trabajo se realiza el análisis de un conjunto de datos mediante distintas técnicas estadísticas. Para ello se hace uso del programa “Matlab R2020a” [23].

El *dataset* con los resultados del estudio en formato Excel ha sido proporcionado por el Servicio de Oftalmología del HUMV.

Este conjunto de datos se divide en dos partes. En una primera parte se encuentra la información de los casos patológicos (AD y MCI) y en la segunda parte la información de los casos control (HC). Los datos que se incluyen en el archivo van más allá de la medida del grosor de las capas mencionadas anteriormente. Para cada uno de los 126 ojos se incluye el sexo y edad de los sujetos. También contiene los resultados del examen oftalmológico que se realizó a cada paciente como la agudeza visual (BCVA, *Best Corrected Visual Acuity*) y la presión intraocular (IOP, *Intraocular Pressure*). Además, se incluyen las medidas de la longitud axial, la esfera (define el grado de hipermetropía) y el cilindro (define el grado de astigmatismo) del globo ocular.

Para todos casos patológicos se incluye su grado de Alzheimer, es decir, se especifica si son MCI o AD. Según los datos obtenidos en el PET/CT realizado, se establece una escala del grado de Alzheimer de cada paciente. Si ese valor es menor o igual que 3 significa que padece MCI. Por el contrario, si el valor es mayor de 3 implica que el paciente tiene Alzheimer declarado.

Las medidas del grosor de las capas retinianas están realizadas en micrómetros. Como se ha mencionado anteriormente, a la hora de realizar las medidas todas las capas se dividen en distintas secciones o regiones.

Las capas GCL, IPL y ONL se dividen en 4 sectores (Figura 1): superior, inferior, temporal y nasal. Por otro lado, la capa RNFL se fragmenta en 6 regiones (Figura 2): temporal superior, temporal, temporal inferior, nasal superior, nasal, nasal inferior. Además, se incluye la media de todas esas secciones.

En total se cuenta con 19 regiones medidas para 126 ojos. De esos 126 ojos, 63 pertenecen a casos patológicos de los cuales, 51 son casos MCI y 12 son AD. Los 63 ojos restantes pertenecen a sujetos sanos, llamados casos control (HC).

Durante todo el trabajo se va a realizar una comparación de los resultados obtenidos en los casos patológicos con los obtenidos en los casos control con la siguiente denominación:

- **PiB:** configuración en la que se comparan todos los sujetos patológicos (MCI y AD) con los sanos. En este caso se tienen 63 ojos patológicos y 63 ojos sanos. Es decir, en esta configuración se incluyen diferentes niveles de neurodegeneración, más extrema en el caso de AD, y más leve en el caso de MCI. Por lo tanto, se espera que la distribución de casos patológicos sea más dispersa,
- **AD:** configuración en la que se comparan sólo los casos de Alzheimer con los casos control. En este caso se tienen 12 ojos patológicos y 12 ojos sanos. En esta configuración se espera la mayor separación entre casos patológicos y casos sanos,
- **MCI:** configuración en la que se comparan los casos de deterioro cognitivo leve con los casos control se denomina MCI. En este caso se tienen 51 ojos patológicos y 51 ojos sanos. Esta es la configuración más interesante para este trabajo pues su

análisis específico permitirá detectar si se encuentran marcadores oftalmológicos que permitan identificar casos precoces de degeneración cerebral.

Cabe destacar que durante el examen oftalmológico hubo ciertas medidas de capas de la retina que no pudieron realizarse correctamente. Esto se debe a que, en el caso de algunos pacientes, que presentaban un grado de Alzheimer avanzado, no pudieron colaborar en la realización de la exploración OCT. Estos datos no medidos aparecen en el *dataset* proporcionado representados con un 0. Sin embargo, se ha considerado que un 0 puede dar lugar a resultados erróneos en un análisis estadístico. Por ello, a la hora de realizar este trabajo, los ceros han sido sustituidos por *NaN*.

En el programa Matlab existen ciertas funciones que no permiten *NaN* como parámetro de entrada. Por esta razón, es necesario esclarecer la cantidad de *NaN* que aparecen en las medidas de cada región y capa de la retina en los casos patológicos.

Capas	PiB	AD	MCI
GCL	1	1	0
RNFL	18	5	13
IPL	5	2	3
ONL	5	2	3

Tabla 1: Cantidad de NaN en las medidas de las capas de la retina.

En el caso de funciones que no permitan *NaN* como parámetros de entrada, se procede de la siguiente forma. Si estamos trabajando sólo con una capa, si aparece un *NaN* en alguna de sus regiones, se eliminan las medidas de ese ojo para toda la capa y las mismas medidas de su sujeto de referencia en los casos control. Cuando trabajamos con todas las capas al mismo tiempo, si una región de una sola capa tiene un *NaN*, se eliminan todas las medidas realizadas al ojo patológico y al sujeto control que le corresponde. Esto se debe a que la matriz de entrada de una función debe tener la misma cantidad de observaciones para todas las variables y también, a que el estudio ha sido realizado asignando un caso control de edad similar a cada caso patológico. Por lo tanto, si eliminamos las medidas de un caso patológico, se elimina también su correspondiente caso control.

En la siguiente tabla se muestran la cantidad de ojos (observaciones) medidos, una vez han sido eliminados los *NaN* para cada capa y también, el caso en el que todas las capas sean el parámetro de entrada de una función.

Capas	PiB	AD	MCI
GCL	124	22	102
RNFL	90	14	76
IPL	116	20	96
ONL	116	20	96
Todas las capas	84	10	74

Tabla 2: Número de observaciones una vez eliminados los NaN.

3.1. Técnicas estadísticas para todas las agrupaciones

En esta parte del trabajo se aplican las técnicas estadísticas a todas las configuraciones del análisis (PiB, AD y MCI) para poder realizar una comparación entre los resultados de las distintas poblaciones.

3.1.1. Diagramas de cajas

En primer lugar, se representan los valores del set de datos en diagramas de caja que permiten realizar una comparación visual de esos datos. En cada figura se muestra una de las capas de la retina para las configuraciones PiB, AD y MCI. En cada una de esas figuras aparecen tantos diagramas de caja como regiones tenga esa capa, representando los casos patológicos en rojo y los sanos en verde. Gracias a los diagramas de caja podemos hacer una comparación a simple vista de las medianas y los valores máximos y mínimos de las agrupaciones. Idealmente las cajas verdes y rojas no deberían solaparse, indicando una separabilidad completa entre las clases de control y patológica. Cuanto mayor sea el solapamiento entre las cajas, peor será la separabilidad de ambas clases y, con ello, la capacidad de establecer un criterio diagnóstico.

1) Capa de células ganglionares (GCL)

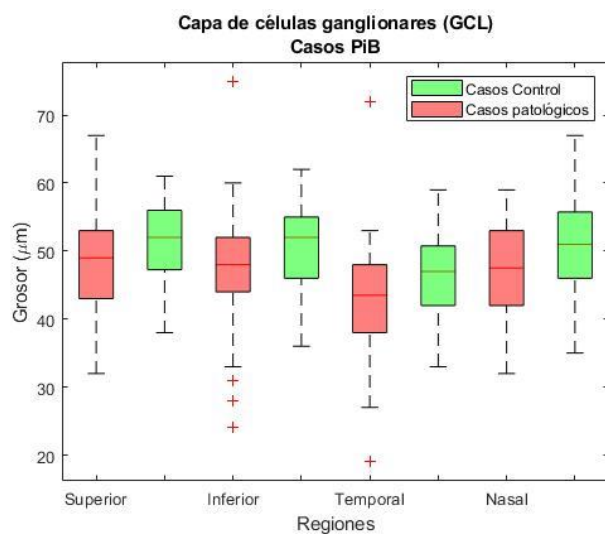


Figura 9: Diagrama de cajas de la capa GCL para casos MCI y HC

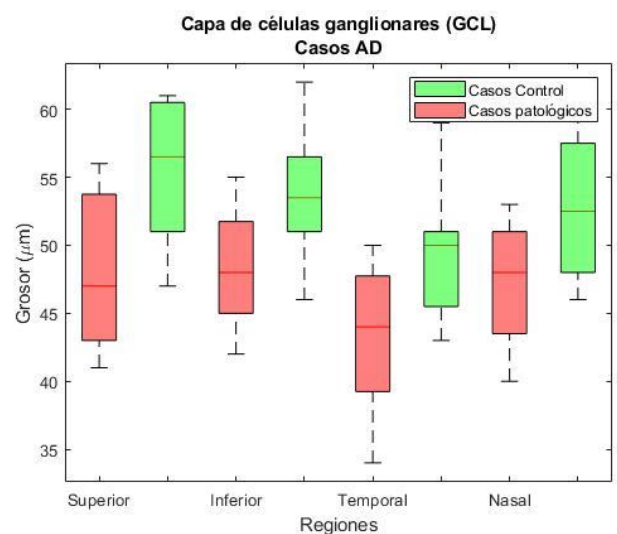


Figura 10: Diagrama de cajas de la capa GCL para casos AD y HC

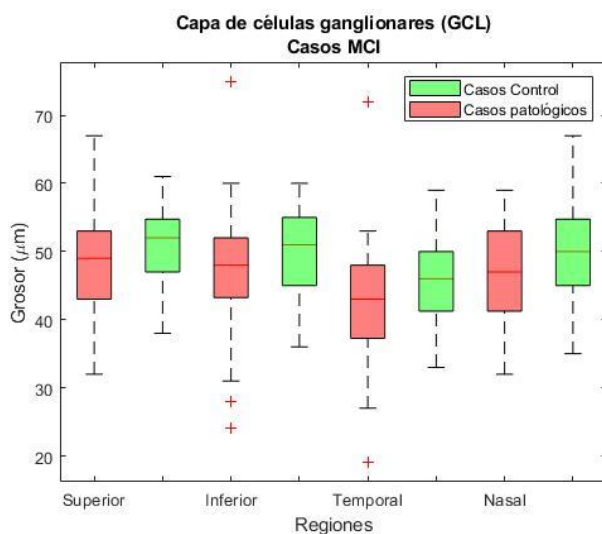


Figura 11: Diagrama de cajas de la capa GCL para casos MCI y HC

En las Figuras 9,10 y 11, obtenemos los diagramas de cajas de las regiones de la capa GCL. Se puede observar que en la capa GCL se obtiene una mayor separabilidad entre las poblaciones AD y HC, ya que sus medianas están mucho más distantes. Además, se observa un mayor grosor en los cuartiles, lo que indica mayor variabilidad entre las medidas de esa población. Las dos regiones que parecen tener una mayor separabilidad para todas las poblaciones son la región temporal y la superior.

2) Capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL)

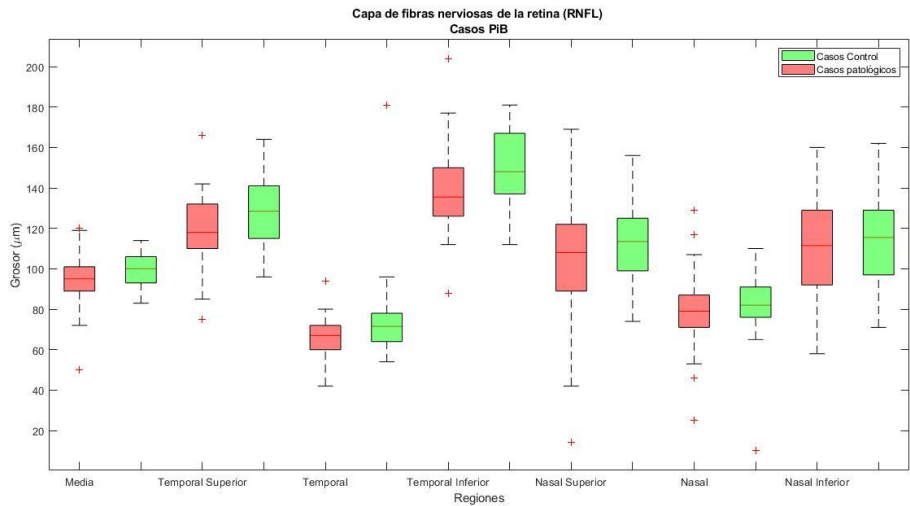


Figura 12: Diagrama de cajas de la capa RNFL para casos PiB y HC

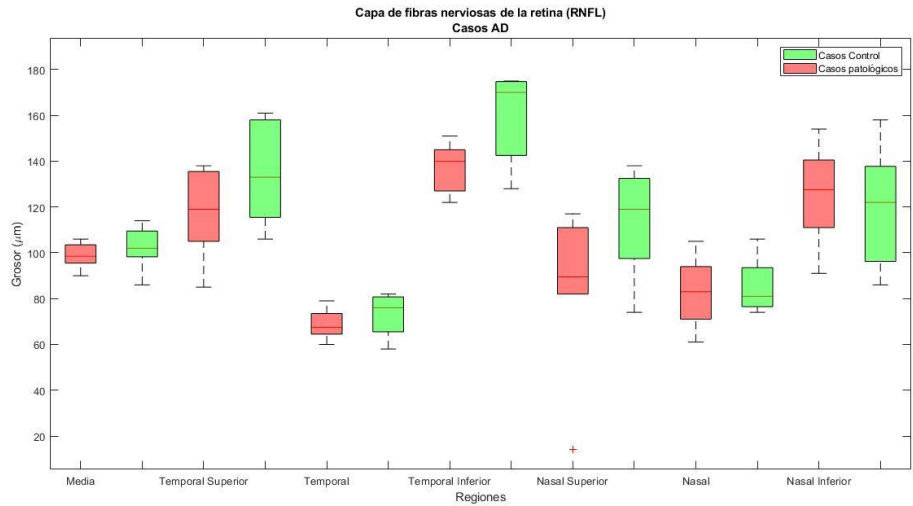


Figura 13: Diagrama de cajas de la capa RNFL para casos AD y HC

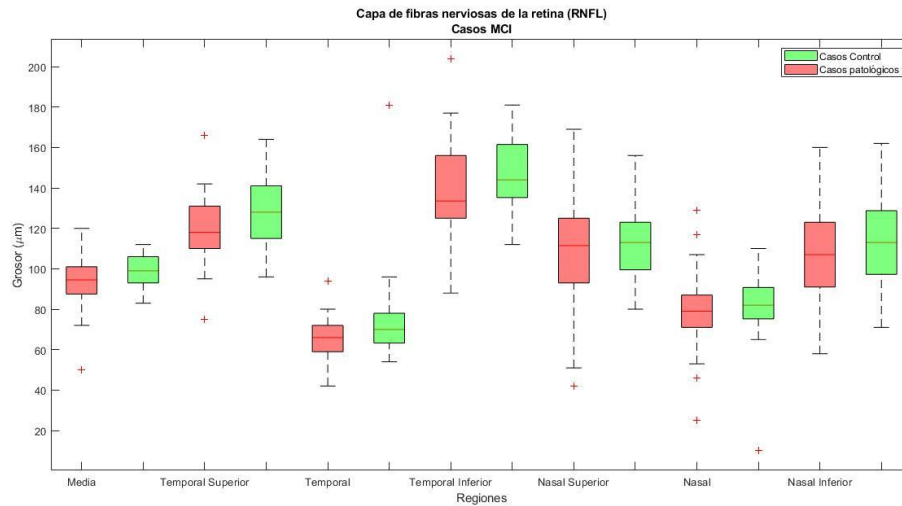


Figura 14: Diagrama de cajas de la capa RNFL para casos MCI y HC

En las Figuras 12, 13 y 14, obtenemos los diagramas de cajas de las regiones de la capa RNFL. Se puede observar que en la capa RNFL también existe una mayor separabilidad entre las poblaciones AD y HC. Las regiones que visualmente aparentan mayor distancia entre sus medianas son la temporal superior, temporal inferior y nasal superior. Esto se repite para los casos MCI y PiB, pero sus cuartiles presentan un menor grosor, lo que indica que los valores de esas poblaciones son más similares entre ellos.

3) Capa plexiforme interna (IPL)

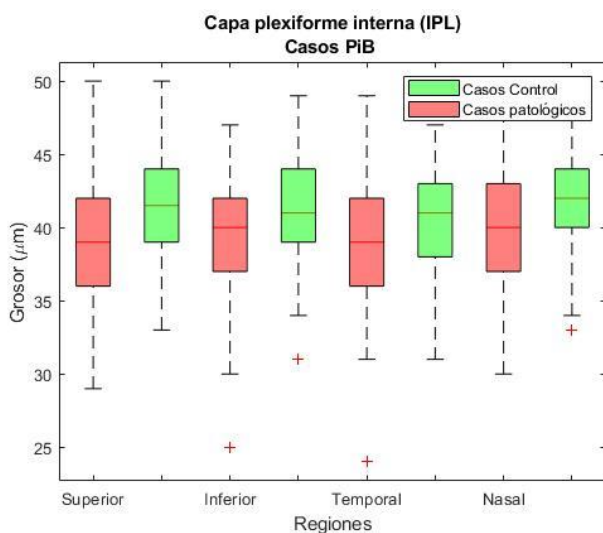


Figura 15: Diagrama de cajas de la capa IPL para casos PiB y HC.

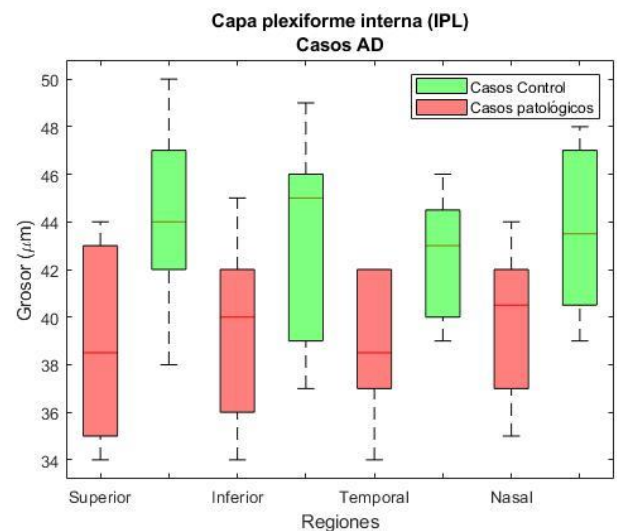


Figura 16: Diagrama de cajas de la capa IPL para casos AD y HC.

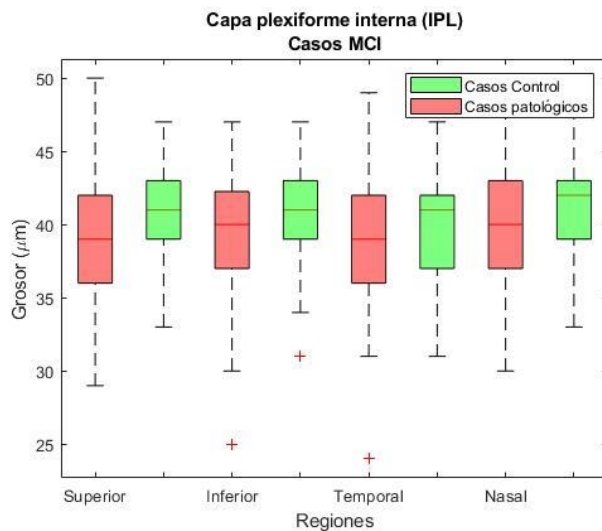


Figura 17: Diagrama de cajas de la capa IPL para casos MCI y HC.

En las Figuras 15,16 y 17, obtenemos los diagramas de cajas de las regiones de la capa IPL. También se ve mayor distancia entre las medianas de los casos AD comparados con HC. La región que visualmente aparenta mayor separabilidad es la superior, especialmente en los casos AD y MCI.

4) Capa nuclear externa (ONL)

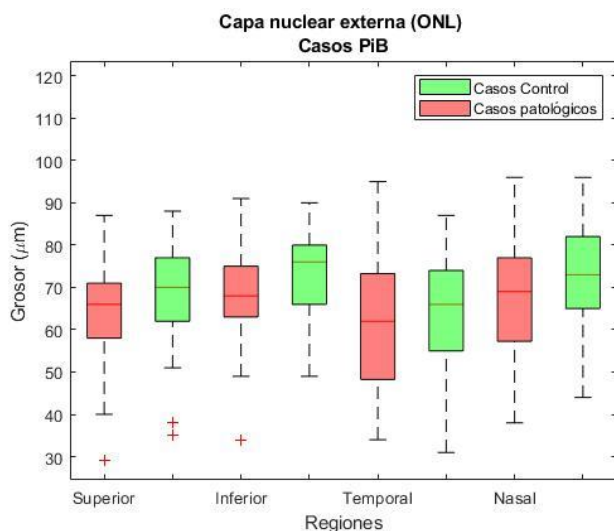


Figura 18: Diagrama de cajas de la capa ONL para los casos PiB y HC

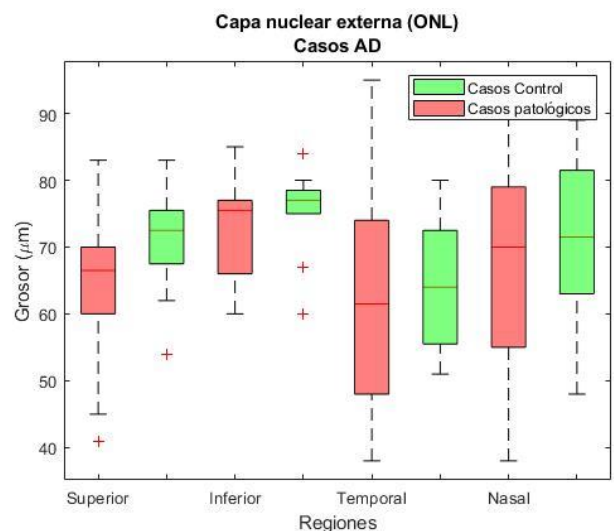


Figura 19: Diagrama de cajas de la capa ONL para los casos AD y HC

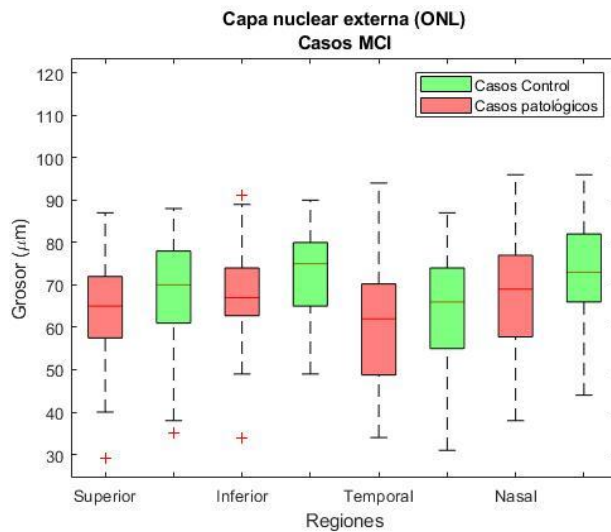


Figura 20: Diagrama de cajas de la capa ONL para los casos MCI y HC

En las Figuras 18,19 y 20 se obtienen los diagramas de cajas de las regiones de la capa ONL. En este caso, también se obtiene una mayor separabilidad en los casos AD, siendo la región superior la que más distancia presenta entre las medianas de las dos poblaciones. Además, se observa que hay dos regiones con una gran variabilidad en sus medidas, la temporal y la nasal, ya que sus cuartiles presentan mucho grosor. Por otro lado, las otras dos capas tienen poca variabilidad. En el caso de MCI se observa cierta separabilidad en la región superior.

En resumen, los diagramas de cajas muestran una mayor variabilidad en la mayoría de las regiones en la comparación de casos AD y HC. Sin embargo, hay ciertas regiones que también presentan separabilidad para casos PiB y MCI, especialmente en las capas GCL Y RNFL.

3.1.2. Test *T* de Student

Esta técnica es utilizada en el estudio clínico, como ha sido mencionado anteriormente, para establecer si las variables medidas poseen separabilidad entre los casos patológicos y sanos.

Por ello, en este trabajo se repite la aplicación de la prueba estadística como una forma de asegurar que los datos utilizados coinciden con los del estudio. Sin embargo, los resultados obtenidos son similares, pero no idénticos a los previos. Esto se debe a que, a la hora de aplicar esta prueba en el estudio, los datos que no se pudieron medir quedaron reflejados con un cero, lo que puede dar lugar a resultados erróneos en la aplicación de técnicas estadísticas. En nuestro caso sustituimos los ceros por *NaN* con el fin de aumentar la fiabilidad de los resultados.

Se ha utilizado la función *ttest* de Matlab. Como parámetro de entrada se introducen las medidas de cada región para todos los ojos, obteniendo como valores de salida *h* y *p*.

En h se obtiene 0 si la hipótesis es nula y 1 si la hipótesis nula se rechaza en favor de la hipótesis alternativa. La hipótesis alternativa en este caso se define como la posibilidad de que las medias de los datos introducidos procedan de poblaciones distintas, es decir, se considera a las poblaciones patológica y control como separables. Como criterio de decisión de la hipótesis se utiliza p que es el nivel de significancia estadística y en este caso se establece a 0,05. Para todo valor de p que se encuentre por debajo de 0,05 la hipótesis nula se rechaza a favor de la hipótesis alternativa.

En la siguiente tabla aparecen los valores de p para las distintas capas y regiones. Destacamos en azul todas aquellas que cumplen la hipótesis alternativa ($p < 0.05$).

Se escoge ese valor de p como límite discriminante debido a que es el mismo valor que se elige en el estudio previo [8].

Capa GCL	PiB	AD	MCI
Superior	0,0078	0,0182	0,0574
Inferior	0,0114	0,0020	0,0523
Temporal	0,0042	0,0221	0,0220
Nasal	0,0223	0,0054	0,0890

Tabla 3: Prueba T de Student de la capa GCL.

Capa RNFL	PiB	AD	MCI
Media	0,0062	0,2278	0,0156
Temporal superior	0,0187	0,0798	0,0615
Temporal	0,0285	0,3117	0,0498
Temporal inferior	0,0037	0,0616	0,0175
Nasal superior	0,0615	0,0997	0,2752
Nasal	0,6729	0,3856	0,8753
Nasal inferior	0,2012	0,5708	0,0899

Tabla 4: Prueba T de Student de la capa RNFL.

Capa IPL	PiB	AD	MCI
Superior	0,0111	0,0263	0,097
Inferior	0,111	0,0441	0,4206
Temporal	0,0661	0,007	0,2680
Nasal	0,0246	0,0086	0,1381

Tabla 5: Prueba T de Student de la capa IPL.

Capa ONL	PiB	AD	MCI
Superior	0,0099	0,0577	0,0476
Inferior	0,0723	0,4417	0,0998
Temporal	0,3439	0,9467	0,2958
Nasal	0,1556	0,6756	0,1661

Tabla 6: Prueba T de Student de la capa ONL.

Estos resultados indican que la capa con mayor separabilidad es GCL, ya que los valores p de sus todas sus regiones se encuentran por debajo del límite establecido, tanto en los casos PiB como AD. En cuanto a los casos MCI, solo se considera separable a la región temporal.

La siguiente capa con mayor separabilidad sería la RNFL, prácticamente en todas sus regiones temporales tanto para los casos PiB como los casos MCI. En cambio, en esta capa los casos AD no se considerarían relevantes.

La capa IPL presenta separabilidad en los casos AD y en las regiones superior y nasal de los casos PiB. Sin embargo, no muestra relevancia para los casos MCI.

Finalmente, la capa ONL solo muestra cierta separabilidad en la región superior para los casos PiB y MCI.

En conclusión, los valores que cumplen la hipótesis alternativa, coinciden prácticamente en su totalidad con los resultados obtenidos en el estudio, aunque como ya se ha mencionado, existan ciertas diferencias en los valores de p .

Además de ser organizados en tablas, los valores p obtenidos en la prueba T de Student se han representado mediante una imagen empleando la función *imagesc* de Matlab, para poder tener una visualización más directa de los resultados. Para representar esos valores es necesario realizar su inversa. Esto se debe a que p indica mayor separabilidad entre poblaciones cuanto más cercano sea a cero. Como queremos comparar todos ambos resultados, nos resulta necesario invertir el valor p .

En una representación mediante *imagesc* utilizando la opción de color 'pink', aparecen en colores blancos o rosados los valores más altos y los valores morados o marrones representan los valores más bajos.

En la Figura 21 se representan los resultados de la prueba T para todos los casos juntos (PiB, AD, MCI).

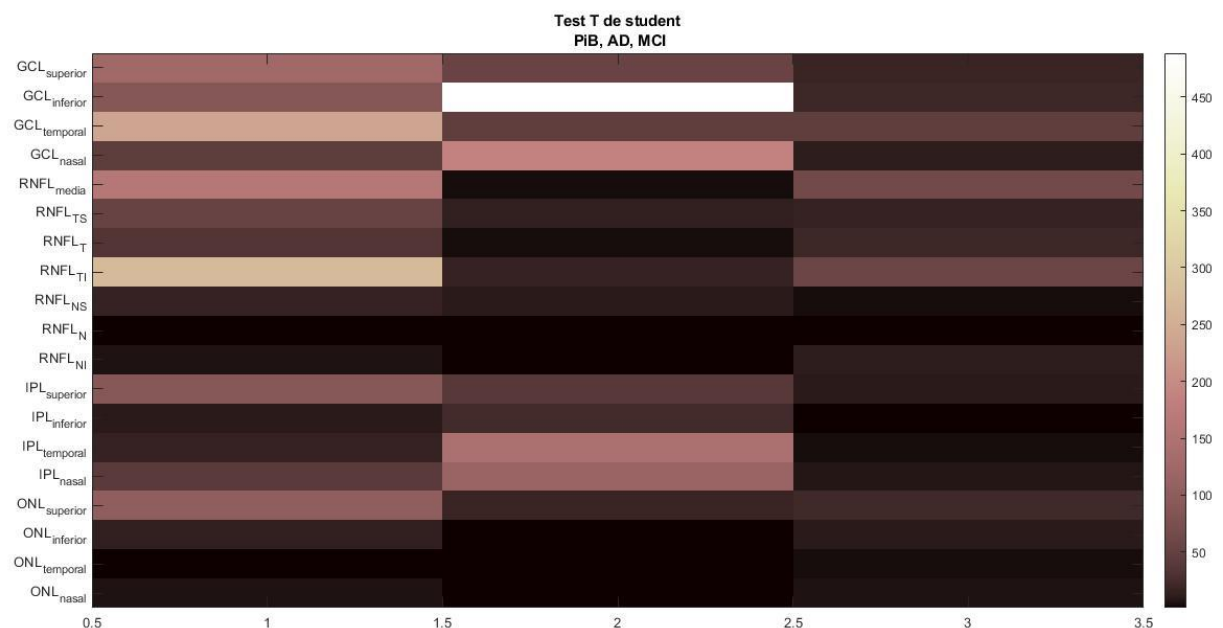


Figura 21: Valor p obtenido de la prueba T de Student para todas las regiones medidas y todos los casos juntos. En el eje vertical aparecen todas las regiones de las distintas capas y en el eje horizontal los 3 casos: PiB, AD y MCI.

Gracias a la Figura 21 podemos observar de forma fácil y rápida cual es la región con mayor separabilidad teniendo en cuenta todas las agrupaciones. En este caso, la región

más relevante es la GCL superior para los casos AD, seguida de la RNFL temporal inferior para los casos PiB. Sin embargo, la diferencia de los valores obtenidos para la agrupación AD con la MCI, no permiten observar correctamente los valores de esta última.

Por ello, para extraer la separabilidad de las agrupaciones por separado y poder centrar el trabajo en los casos MCI, en la Figura 22 se representan los valores p obtenidos, pero para cada agrupación de sujetos por separado.

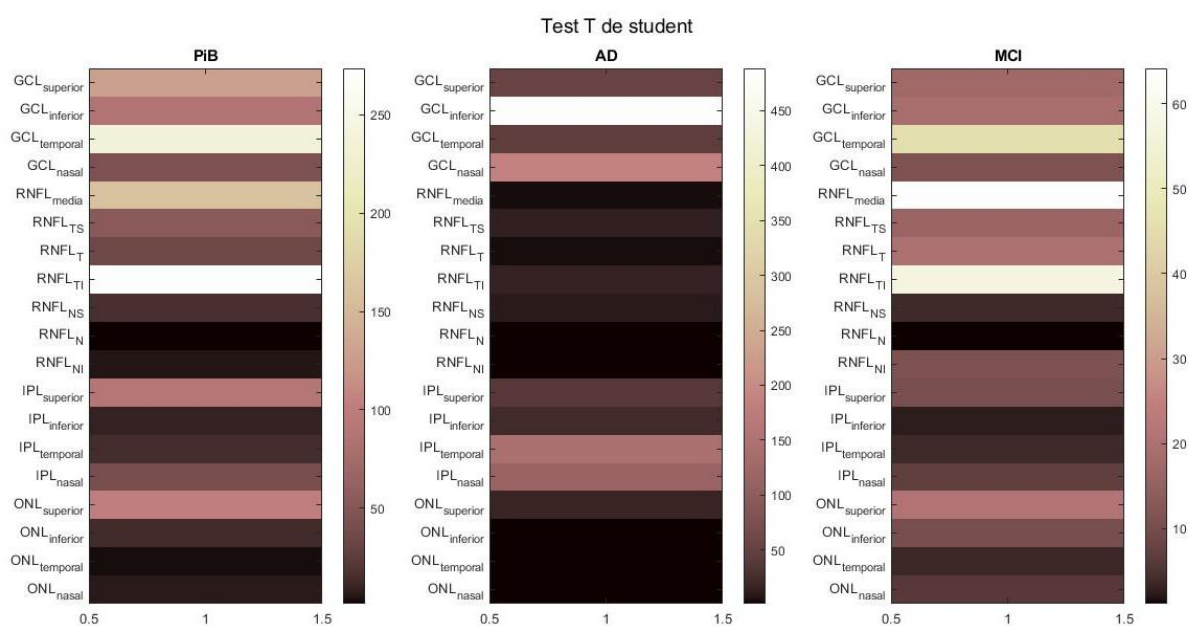


Figura 22: Valor p obtenido de la prueba T de Student para todas las regiones medidas y cada caso por separado. En el eje vertical aparecen todas las regiones de las distintas capas y en el eje horizontal los 3 casos: PiB, AD y MCI.

En la figura 22 podemos ver que resulta más sencillo discernir las variables más relevantes representando los casos por separado. Para los casos MCI, las regiones con mayor separabilidad son la RNFL media y temporal inferior y la GCL temporal.

3.1.3. Métricas de distancias

Con el objetivo de confirmar si hay separabilidad en las poblaciones estudiadas, se realizan dos cálculos de las distancias entre las poblaciones patológicas y sanas: la distancia de Mahalanobis y la distancia de Bhattacharyya.

Las dos distancias son utilizadas para comparar poblaciones. Mahalanobis obtiene valores más altos que Bhattacharyya, pero estas distancias no comparten sus rangos de definición por lo que no son comparables entre sí y sólo se utilizan para ver la implicación que tiene cada una de las capas y sectores retinianos en la separabilidad de poblaciones sanas y enfermas. La distancia de Bhattacharyya se considera más confiable debido a que la distancia de Mahalanobis es un caso particular de ésta.

3.1.3.1. Distancia de Mahalanobis

En la siguiente tabla aparecen representadas la distancias de Mahalanobis calculadas mediante (4), obtenidas para cada capa individualmente. En azul aparecen representadas las 7 variables más relevantes para cada agrupación de casos. La elección de 7 como la cantidad de variables más relevantes se basa en una técnica denominada ReliefF de la que hablaremos en el apartado 3.3.1.

GCL	PiB	AD	MCI
Superior	0,3779	0,8038	0,3004
Inferior	0,3456	0,8303	0,2970
Temporal	0,3986	0,8172	0,3522
Nasal	0,3194	0,7417	0,2663

Tabla 7: Distancias de Mahalanobis de la capa GCL

RNFL	PiB	AD	MCI
Media	0,3995	0,5683	0,3785
Temporal superior	0,3607	0,4930	0,3287
Temporal	0,3561	0,4866	0,3484
Temporal inferior	0,3990	0,6771	0,3548
Nasal superior	0,2444	0,6857	0,1490
Nasal	0,0532	0,2883	0,0219
Nasal inferior	0,1746	0,2112	0,2517

Tabla 8: Distancias de Mahalanobis de la capa RNFL.

IPL	PiB	AD	MCI
Superior	0,3716	0,9104	0.2632
Inferior	0,2227	0.6793	0.1252
Temporal	0,2576	0.9261	0.1726
Nasal	0,3145	0.8001	0.2329

Tabla 9: Distancias de Mahalanobis de la capa IPL.

ONL	PiB	AD	MCI
Superior	0.3504	0.6713	0.2945
Inferior	0.2309	0.2032	0.2379
Temporal	0.1424	0.0285	0.1667
Nasal	0.2030	0.1722	0.2079

Tabla 10: Distancias de Mahalanobis de la capa ONL.

Los resultados obtenidos al comparar las medidas de las regiones de los casos patológicos con los sanos mediante distancias de Mahalanobis coinciden en su mayoría con los resultados obtenidos de la prueba T de *Student*.

La capa GCL vuelve a ser la que presenta separabilidad en su conjunto. La distancia obtenida es bastante alta en la mayoría de sus regiones para los casos AD y MCI. En el caso de PiB se obtiene mayor separabilidad en las regiones superior y temporal.

La capa RNFL presenta gran separabilidad en todas sus regiones temporales, al igual que en la prueba-T, especialmente en los casos PiB y MCI. Aunque los casos AD también muestran separabilidad, no se les considera relevantes al comparar los datos con los de las otras capas.

La capa IPL es la que mayor separabilidad muestra en los casos AD. También se obtiene una distancia relevante en la región superior de los casos PiB. Estos resultados coinciden con los de la prueba realizada anteriormente.

Finalmente, la capa ONL no proporciona ningún valor que se pueda considerar importante.

Al igual que en el apartado anterior, representamos todos los valores de distancia obtenidos utilizando la función *imagesc* de Matlab. En la Figura 23 representamos las distancias obtenidas para las distintas regiones y teniendo en cuenta todas las agrupaciones de casos.

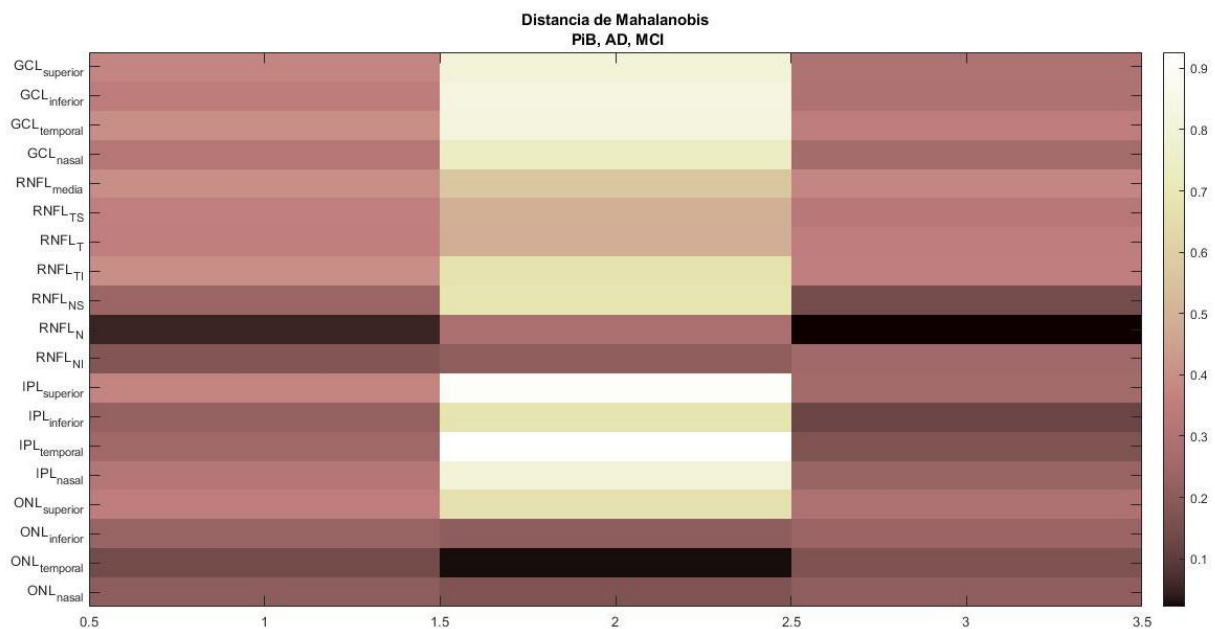


Figura 23: Distancia de Mahalanobis obtenida para todas las regiones medidas y todos los casos juntos. En el eje vertical aparecen todas las regiones de las distintas capas y en el eje horizontal los 3 casos: PiB, AD y MCI.

En la gráfica representada, se puede ver que los casos AD vuelven a ser los que más separabilidad proporcionan, excepto para la mayoría de las regiones de la capa ONL y las regiones nasales de la RNFL. Es por ello, que en la Figura 24 volvemos a representar las distancias obtenidas, pero esta vez tomando cada agrupación por separado.

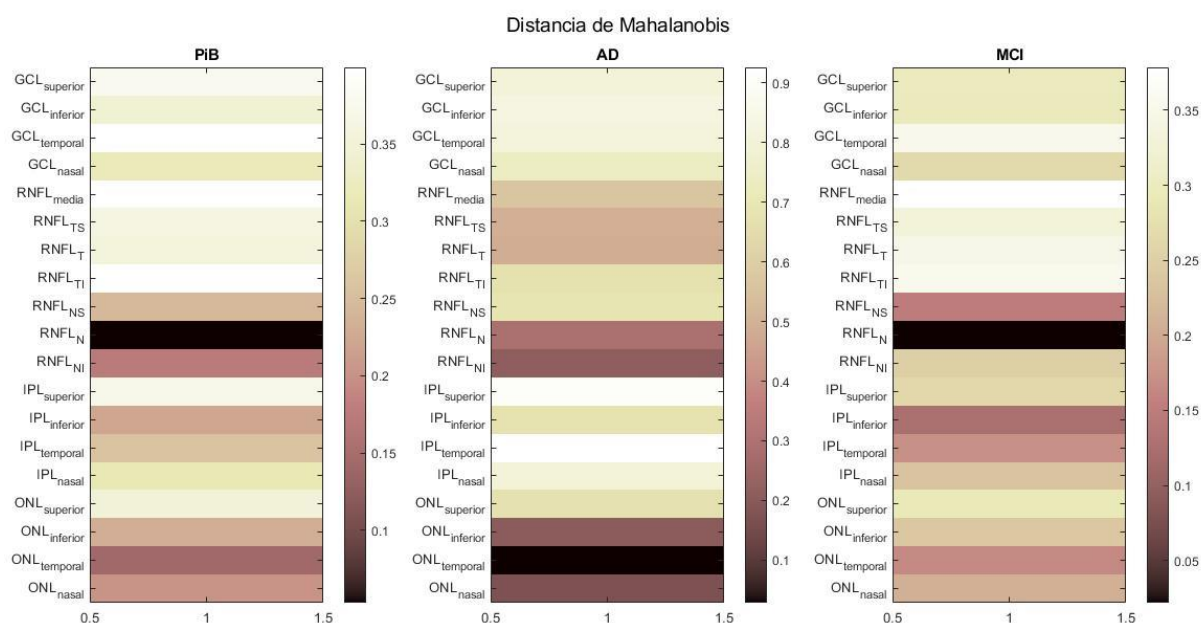


Figura 24: Distancia de Mahalanobis obtenida para todas las regiones medidas y cada caso por separado. En el eje vertical aparecen todas las regiones de las distintas capas y en el eje horizontal los 3 casos: PiB, AD y MCI.

En la Figura 24 se observa que la mayoría de las distancias obtenidas en la agrupación MCI tienen valores muy similares, exceptuando las regiones nasal y nasal superior de la capa RNFL y también, en cierta medida, la mayoría de las regiones de la capa IPL y ONL. Entonces, se podría considerar que la distancia de Mahalanobis establece a la mayoría de las regiones como separables.

3.1.3.2. Distancia de Bhattacharyya

El mismo procedimiento realizado con las distancias de Mahalanobis se utiliza para el cálculo de las distancias de Bhattacharyya, pero en este caso utilizando la función *bhattacharyyaDistance* de Matlab. Como parámetros de entrada, introducimos las medidas de cada capa individualmente y un vector lógico I, indicando los casos patológicos y control. En las siguientes tablas aparece los valores obtenidos a partir de esa función y representadas en azul, las 7 variables más relevantes.

GCL	PiB	AD	MCI
Superior	0,0451	0,1618	0,0392
Inferior	0,0513	0,1730	0,0481
Temporal	0,0661	0,2217	0,0576
Nasal	0,0305	0,1377	0,0243

Tabla 11: Distancias de Bhattacharyya de la capa GCL.

RNFL	PiB	AD	MCI
Media	0.0518	0.2509	0.0599
Temporal superior	0.0331	0.0608	0.0280
Temporal	0.0352	0.0603	0.0350
Temporal inferior	0.0592	0.2088	0.0684

Nasal superior	0.0740	0.1375	0.0623
Nasal	0.0065	0.0444	0.0070
Nasal inferior	0.0119	0.0299	0.0210

Tabla 12: Distancias de Bhattacharyya de la capa RNFL.

IPL	PiB	AD	MCI
Superior	0,0439	0,2078	0,0420
Inferior	0,0173	0,1164	0,0176
Temporal	0,0229	0,2194	0,0181
Nasal	0,0282	0,1625	0,0197

Tabla 13: Distancias de Bhattacharyya de la capa IPL.

Regiones ONL	PiB	AD	MCI
Superior	0,0328	0,2395	0,0220
Inferior	0,0133	0,0155	0,0143
Temporal	0,0166	0,0883	0,0116
Nasal	0,0266	0,0224	0,0275

Tabla 14: Distancias de Bhattacharyya de la capa ONL.

Los resultados obtenidos mediante la distancia de Bhattacharyya coinciden en su mayoría con las técnicas aplicadas anteriormente. Cabe destacar que esta distancia diferencia a la capa IPL como la más separable para los casos AD. Además, se observa una mayor distancia en las regiones temporal inferior y nasal superior de la capa RNFL en los casos MCI.

Al igual que los casos anteriores, se vuelve a representar los valores de las distancias mediante la función *imagesc* de Matlab. En la Figura 25 se representan las distancias de Bhattacharyya de las regiones, cuando se tienen en cuenta todas las agrupaciones.

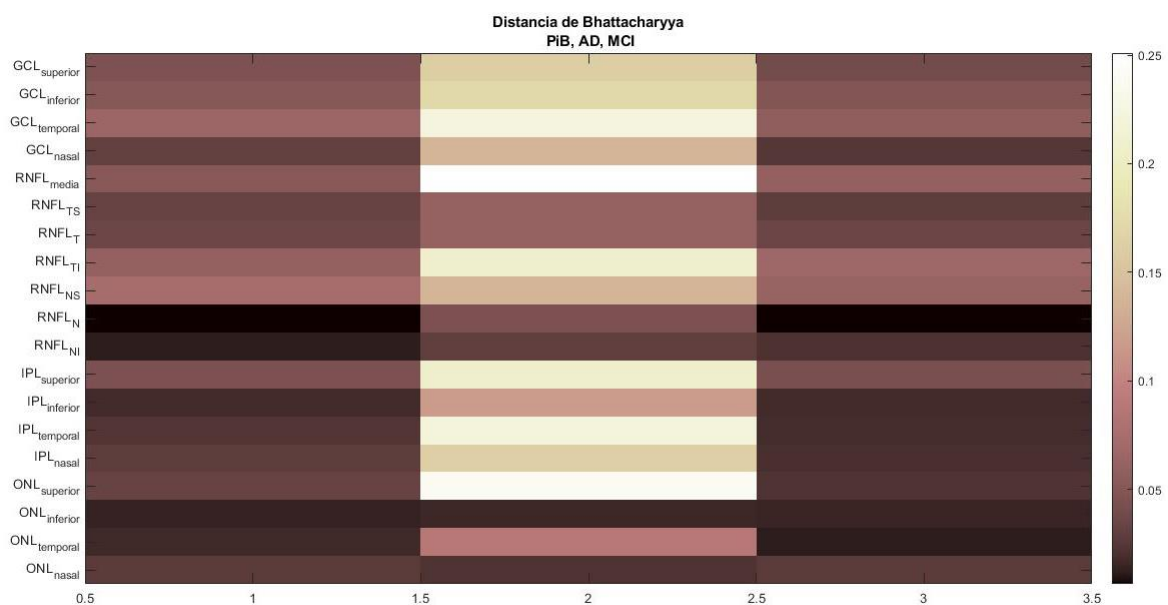


Figura 25: Distancia de Bhattacharyya obtenida para todas las regiones medidas y todos los casos juntos. En el eje vertical aparecen todas las regiones de las distintas capas y en el eje horizontal los 3 casos: PiB, AD y MCI.

En la Figura 25, se vuelve a observar que la agrupación AD es la que obtiene valores más altos de distancia para la mayoría de las regiones e impide ver con claridad los resultados de los otros casos. Es por ello, que en la Figura 26 representamos cada caso individualmente.

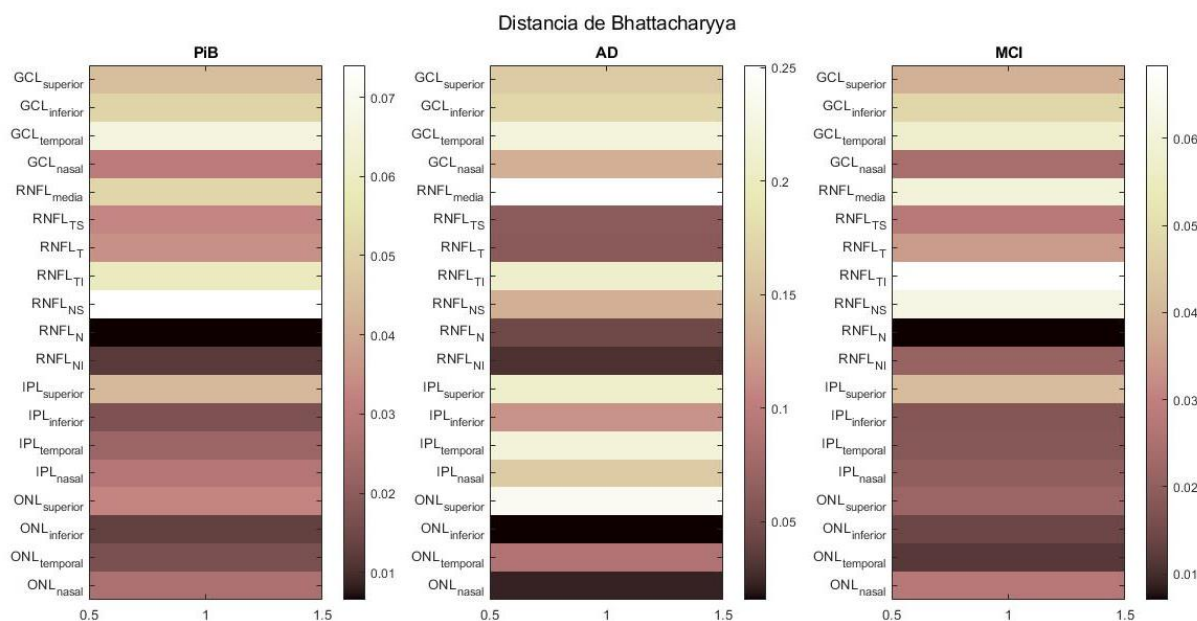


Figura 26: Distancia de Bhattacharyya obtenida para todas las regiones medidas y cada caso por separado. En el eje vertical aparecen todas las regiones de las distintas capas y en el eje horizontal los 3 casos: PiB, AD y MCI.

Esta Figura, confirma de forma visual los datos obtenidos en las tablas. En los casos MCI, la región temporal inferior, nasal inferior y media son las más separables junto a las regiones de la capa GCL y la región superior de IPL.

3.2. Técnicas estadísticas para MCI

A partir de este punto del trabajo, el análisis se va a centrar en la configuración MCI, es decir, en la comparación diferencial entre los casos de deterioro cognitivo leve y los casos sanos de control.

El razonamiento que justifica este planteamiento se explica a continuación. En las técnicas evaluadas en los apartados anteriores se ha observado una mayor separabilidad para los casos con Alzheimer. Estos resultados tienen sentido, porque un mayor grado de la enfermedad implicaría un mayor deterioro retinal. Sin embargo, el objetivo del estudio es una detección precoz de la enfermedad en su etapa temprana. Por ello, los últimos apartados se dedican a obtener las regiones más relevantes mediante extracción y selección de características aplicándose sólo a la configuración MCI.

Antes de nada, la Figura 27 y la Figura 28 representan la relación existente entre las distancias de separabilidad y la significancia obtenida con la prueba T de Student

(valores inversos de p). Esta relación se representa con un diagrama de dispersión utilizando la función *gscatter* de Matlab.

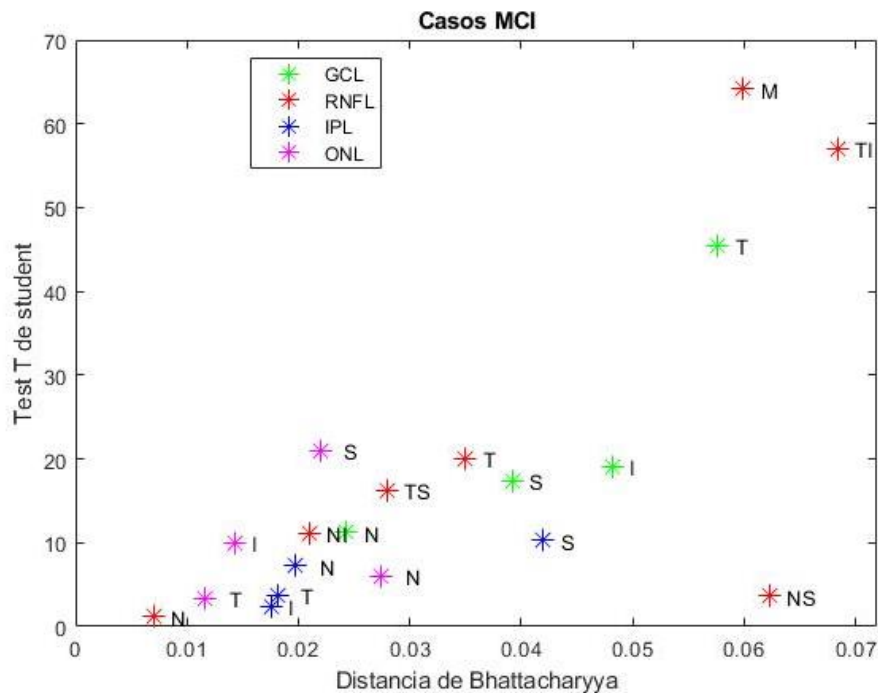


Figura 27: Distancia de Mahalanobis Vs valores p^{-1} de la prueba T de Student. Representado mediante la función *gscatter* para poder presentar las diferentes regiones agrupadas por capas y diferenciadas mediante colores.

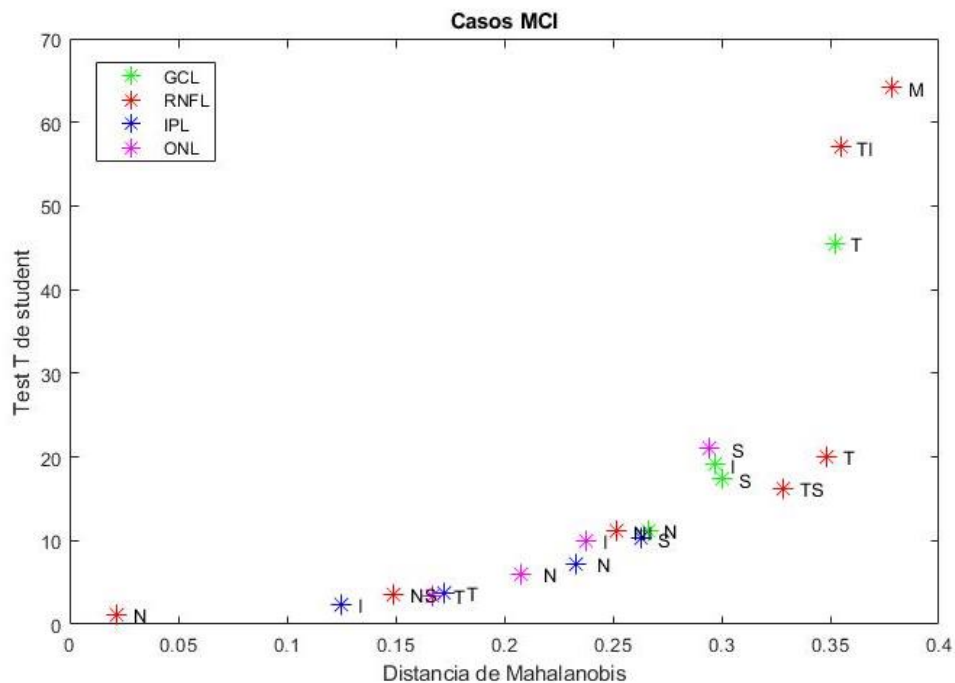


Figura 28: Distancia de Bhattacharyya Vs valores p^{-1} de la prueba T de Student. Representado mediante la función *gscatter* para poder presentar las diferentes regiones agrupadas por capas y diferenciadas mediante colores.

Las Figuras 27 y 28 se utilizan para comparar los valores obtenidos mediante las métricas de distancias con los valores de la prueba T de *Student*. En ambas comparaciones, las regiones que demuestran una mayor relevancia son la media y temporal inferior de la capa RNFL y la temporal de la capa GCL. En cuanto a las variables menos relevantes, las dos Figuras muestran a la región nasal de la capa RNFL, junto con la mayoría de las regiones de las capas IPL y ONL.

3.2.1. Selección de características mediante ReliefF

En los apartados anteriores, se ha trabajado con las observaciones de las medidas divididas por capas. Sin embargo, a la hora de aplicar ReliefF y MDS, se necesita aplicar los algoritmos a todas las variables juntas. Por ello, en la Tabla 15 se describe el orden en el que se introducen las medidas de cada región de la retina, para facilitar la interpretación de los resultados explicados más adelante.

1	GCL superior
2	GCL inferior
3	GCL temporal
4	GCL nasal
5	RNFL media
6	RNFL temporal superior
7	RNFL temporal
8	RNFL temporal inferior
9	RNFL nasal superior
10	RNFL nasal
11	RNFL nasal inferior
12	IPL superior
13	IPL inferior
14	IPL temporal
15	IPL nasal
16	ONL superior
17	ONL inferior
18	ONL temporal
19	ONL nasal

Tabla 15: Orden en el que se han introducido las regiones de las capas de la retina.

Las pruebas estadísticas realizadas hasta ahora nos dan una idea de cuáles son las variables más relevantes para el estudio. Aunque la mayoría de los valores tienen un resultado común, no establecen un límite que nos indique cuales aportan más información al estudio y cuales se pueden considerar irrelevantes. Incluso, yendo más allá, si considerar más de una variable relevante pudiera ayudar en la optimización del diagnóstico.

Por ello, se aplica una técnica de selección de características denominada ReliefF a todas las regiones medidas, y se encargará de ordenar esas variables de mayor a menor relevancia.

La función *ReliefF* de Matlab necesita como parámetros de entrada la matriz con todas las regiones medidas para cada sujeto, un vector lógico que indica cuales son los casos

patológicos y cuales los sanos y el número de vecinos (k). Como parámetros de salida, obtenemos un vector de índices que aporta la posición de las variables cuando son ordenadas de más relevantes a menos relevantes. Además, se obtiene otro vector con los pesos de cada variable, en este caso, en el mismo orden que la matriz de entrada. El número de vecinos k se considera elección del usuario. Para estudiar qué valor de k es óptimo y si este valor realmente afecta a los resultados, se realiza lo siguiente:

Se obtienen los resultados de la función *ReliefF* para diferente número de vecinos (k) mediante un ciclo. Se utiliza un barrido de $1:M$, siendo M el número de ojos tanto patológicos como sanos. La función *ReliefF* acepta *NaN* como parámetro de entrada, por lo que, en el caso de MCI $M=102$ ojos.

En cada ciclo, se normalizan los pesos obtenidos de la función *ReliefF* para que tomen un valor entre 0 y 1. Una vez finalizados todos los ciclos, se representan todos los pesos obtenidos mediante la función *imagesc*.

En la siguiente gráfica se representan los pesos obtenidos para los distintos valores de k (eje y) y todas las regiones medidas (eje x).

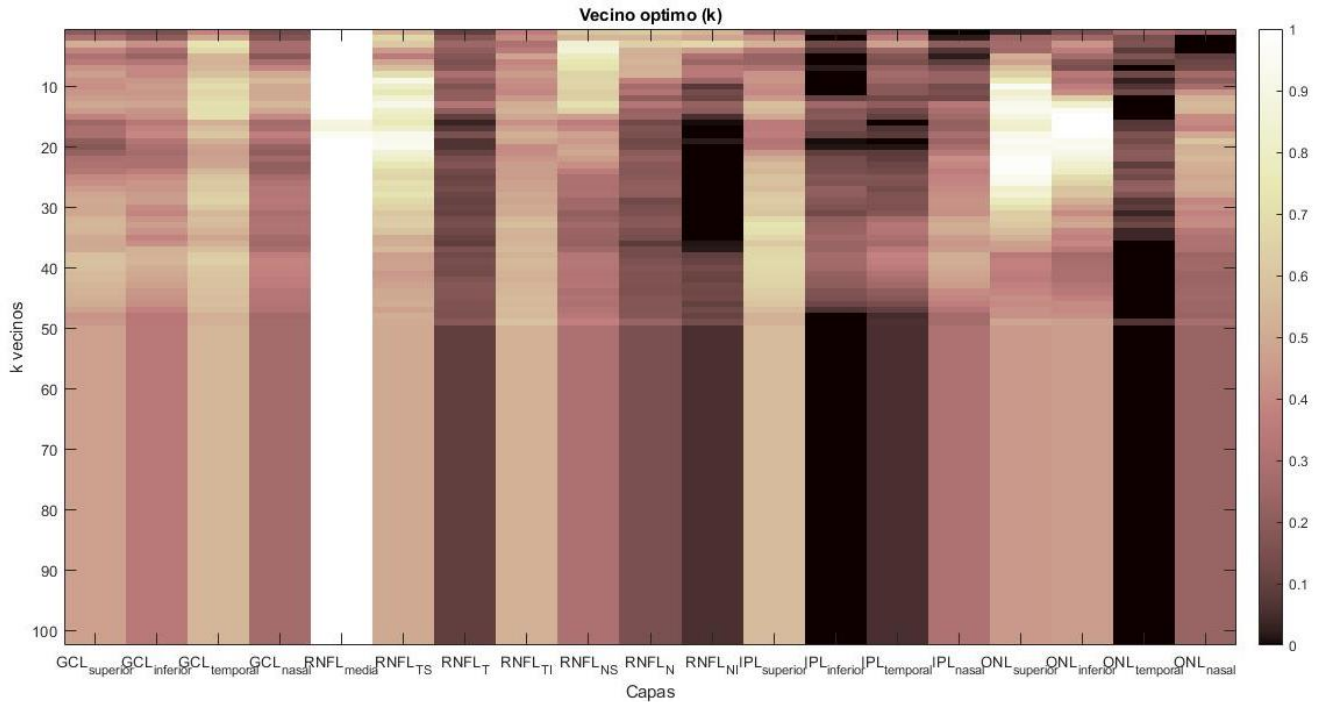


Figura 29: Pesos de cada región obtenidos mediante la función *ReliefF* para distinto número de vecinos (k)

En la Figura 29 representada, se observan en colores más claros las regiones más relevantes, ya que tienen más peso, y en colores más oscuros las que el algoritmo considera irrelevantes. Además, los valores de los pesos de las regiones se estabilizan a partir de $k = \frac{M}{2} + 1$. En el caso de MCI, ese valor son 52 ojos. Un valor que establezca un algoritmo parece que sería el caso óptimo, por lo que lo vamos a estudiar. Sin embargo, está globalmente establecido [16] que el número de vecinos óptimos en el algoritmo *ReliefF* es $k = 10$.

Para corroborar que la variación de k vecinos altera realmente los resultados, obtenemos el vector de índices de la función ReliefF para $k = 52$ y $k = 10$. Para saber qué región corresponde a cada número se debe ir a la Tabla 15.

Con $k = 52$ las regiones ordenadas de mayor a menor relevancia son las siguientes:

5	12	3	8	6	1	17	16	2	15	9	4	19	10	7	11	14	18	13
---	----	---	---	---	---	----	----	---	----	---	---	----	----	---	----	----	----	----

Con $k = 10$ las regiones ordenadas de mayor a menor relevancia son las siguientes:

5	16	6	3	9	4	2	1	12	8	17	19	10	14	7	15	11	18	13
---	----	---	---	---	---	---	---	----	---	----	----	----	----	---	----	----	----	----

Como se puede observar, la relevancia de las regiones varía en función de k vecinos.

Aparte de la decisión del número de vecinos, una vez aplicado el algoritmo y obtenido el orden de relevancia de las variables, es necesario decidir la cantidad de capas/regiones que establecemos las más importantes. A la cantidad de regiones más relevantes, a determinar por el usuario, se va a denominar como N .

Para determinar el número adecuado de regiones se utilizan dos técnicas:

1. En primer lugar, extraemos la cantidad de capas/sectores que suponen el 75% del valor total del vector de pesos. Los resultados de esta técnica son $N = 7$ con $k = 10$ y $N = 9$ con $k = 52$. Si realizamos la media de la cantidad de capas que se estiman como relevantes mediante esta técnica para $k=1:52$, se obtiene que $N=7,35$. Es por ello que establecemos $N=7$ como la cantidad estándar de variables relevantes.
2. El segundo método de obtención de N consiste en medir la distancia de Bhattacharyya entre las regiones ordenadas de mayor a menor relevancia. En primer lugar, se obtendría la distancia para todas las observaciones de la región más relevante. A continuación, se van introduciendo una a una las observaciones de las siguientes regiones más relevantes y calculando su distancia de Bhattacharyya. Realizamos este proceso con las 15 capas más relevantes. Una vez terminado, se analiza qué combinación de regiones ofrece una distancia de Bhattacharyya mayor y por lo tanto mayor separabilidad. Los resultados de este proceso son $N = 3$ con $k = 10$ y $N = 9$ con $k = 52$.

En este caso, la Tabla 16 muestra la evolución de la distancia de separabilidad en función de la variación de k , indicando el número de regiones seleccionado en cada caso. El número de regiones se ha escogido mediante la segunda técnica mencionada anteriormente y la distancia de Bhattacharyya utilizada para seleccionar la combinación de regiones más separable también aparece en la Tabla 16.

K vecinos	Capas relevantes (N)	Distancia de Bhattacharyya	K vecinos	Capas relevantes (N)	Distancia de Bhattacharyya
1	3	0.0144	27	3	0.0157
2	2	0.0279	28	3	0.0157
3	2	0.0463	29	3	0.0157
4	2	0.0463	30	3	0.0157
5	2	0.0463	31	3	0.0157

6	2	0.0463	32	4	0.0101
7	2	0.0463	33	4	0.0101
8	2	0.0279	34	4	0.0101
9	2	0.0279	35	5	0.0091
10	3	0.0157	36	10	0.0090
11	3	0.0157	37	10	0.0090
12	3	0.0157	38	11	0.0089
13	3	0.0157	39	10	0.0090
14	4	0.0152	40	10	0.0090
15	4	0.0152	41	10	0.0090
16	4	0.0152	42	10	0.0090
17	4	0.0152	43	10	0.0090
18	3	0.0172	44	11	0.0091
19	4	0.0152	45	11	0.0091
20	2	0.0279	46	9	0.0092
21	4	0.0152	47	9	0.0092
22	4	0.0152	48	2	0.0152
23	4	0.0152	49	2	0.0152
24	4	0.0152	50	9	0.0092
25	4	0.0152	51	9	0.0092
26	3	0.0157	52	9	0.0092

Tabla 16: Variación de número de capas relevantes basado en su distancia de Bhattacharyya y el número de vecinos k , utilizando ReliefF.

3.2.2. Escalamiento multidimensional (MDS)

El último paso de este trabajo es aplicar una técnica de escalamiento multidimensional que permite visualizar la separabilidad de un conjunto de datos de una manera rápida y sencilla.

La aplicación del algoritmo mediante Matlab es la siguiente. Comenzamos mediante la eliminación de los *NaN* de las regiones medidas, debido a que la función que se utiliza en Matlab no los acepta como parámetro de entrada.

Por lo tanto, tenemos una matriz con 19 variables (regiones) y M ojos (observaciones). Para el caso de MCI, según indica la *Tabla 2* y obtenemos la cantidad de ojos que quedan si eliminamos todos los *NaN* de las capas, vemos que $M = 74$ ojos. En resumen, tenemos una matriz de entrada de tamaño 74×19 . Normalizamos esa matriz región a región, debido a que algunas de las capas de la retina son más gruesas que otras y si no normalizásemos, los resultados darían lugar a error. Una vez normalizada, todos los valores de la matriz se encuentran entre 0 y 1. Se obtiene una matriz de distancias simétrica calculando la distancia euclídea de los valores de la matriz normalizada.

El tipo de escalamiento que se realiza es escalamiento multidimensional clásico (CMDS) mediante la función *cmdscale* de Matlab.

La matriz de distancias es el parámetro de entrada al algoritmo MDS. Además, también se introduce la dimensión de la matriz de coordenadas que queremos obtener. En este caso establecemos la dimensión más pequeña posible que es 2. Una vez realizado el escalamiento, obtenemos como parámetro de salida una matriz de coordenadas $2 \times M$, en el caso de MCI 2×74 . La matriz de coordenadas se representa en la siguiente

gráfica. En ella se dibujan las 37 observaciones de los casos patológicos en rojo y las 37 observaciones de los casos control en verde.

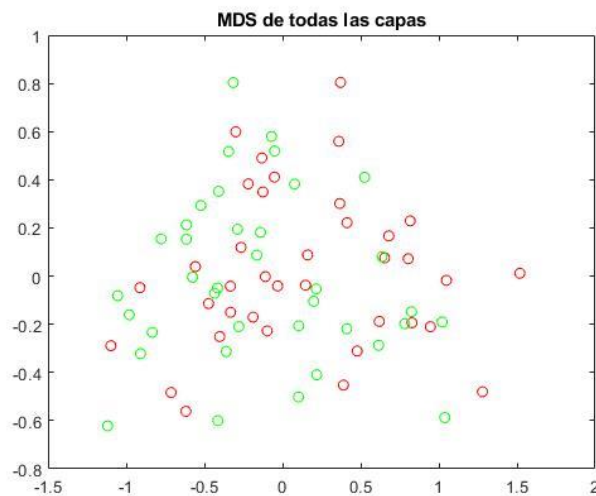


Figura 30: Escalamiento multidimensional clásico de todas las regiones para los casos MCI.

Observando la Figura 30 se puede deducir que el algoritmo no realiza una separación clara de las variables, es decir, no obtenemos una separabilidad clara entre las dos poblaciones sana y enferma. Esto se puede deber a diversas razones, siendo una de ellas que la cantidad de variables y observaciones introducidas no sean las suficientes como para que el algoritmo realice un escalamiento óptimo, especialmente si tenemos en cuenta la eliminación de varios casos al quitar los *NaN*. Debido a este resultado, se decidió volver a aplicar la técnica de escalamiento, pero en lugar de aplicarse todas las capas, sólo a aquellas que resulten más relevantes según distintos criterios basados en las técnicas estadísticas usadas en apartados anteriores.

En la Figura 31, utilizamos como matriz de entrada las 7 regiones más relevantes según los resultados obtenidos en el test-T.

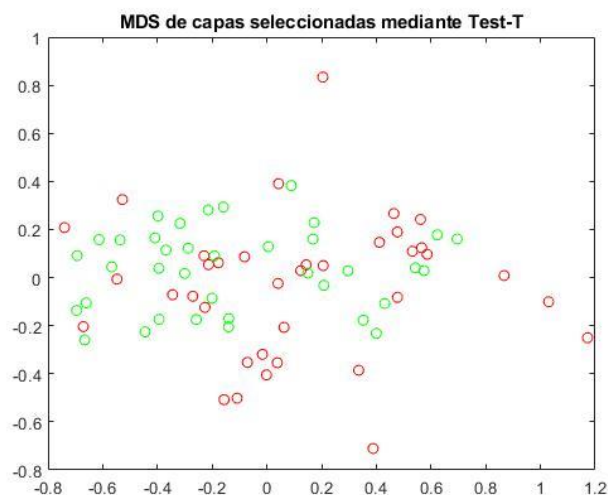


Figura 31: Escalamiento multidimensional clásico de las 7 regiones más relevantes según los valores obtenidos en el Test -T.

En la Figura 32, utilizamos como matriz de entrada las 7 regiones más relevantes según la distancia de Mahalanobis. En la Figura 33, utilizamos como matriz de entrada las 7 regiones más relevantes según la distancia de Bhattacharyya.

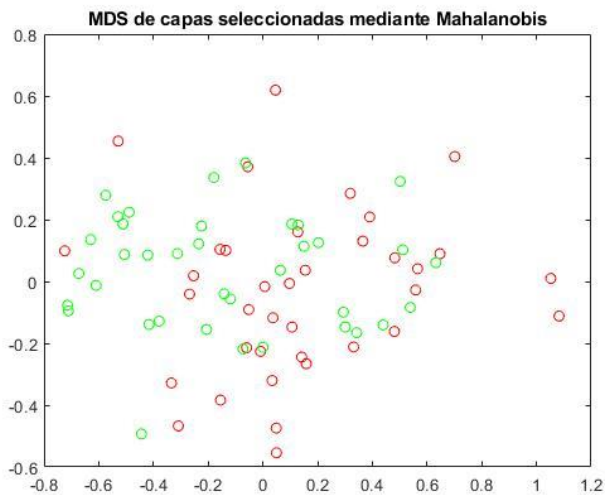


Figura 32: Escalamiento multidimensional clásico de las 7 regiones más relevantes según las distancias de Mahalanobis.

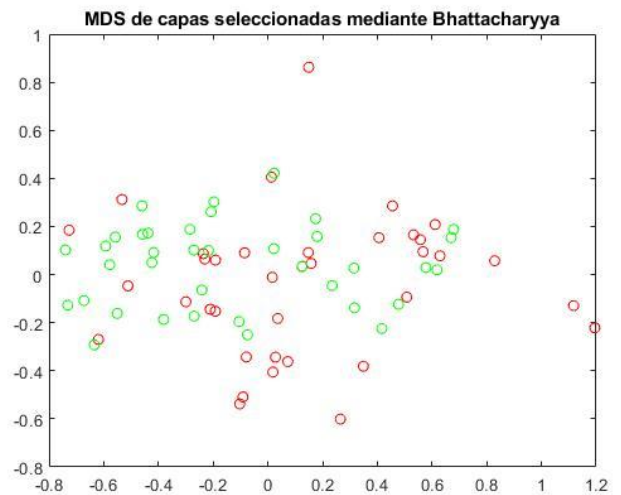


Figura 33: Escalamiento multidimensional clásico de las 7 regiones más relevantes según las distancias de Bhattacharyya.

Los resultados de las Figuras 31, 32 y 33 muestran una mejora visual respecto a los resultados del escalamiento multidimensional aplicado a todas las regiones.

Con el objetivo de encontrar la combinación de capas que proporcione una mayor separabilidad a la técnica MDS, volvemos a utilizar ReliefF. Volvemos a realizar un barrido de los k vecinos de 1:52 que introducimos como valor de entrada del algoritmo. En cada ciclo de ese barrido obtenemos las regiones en orden de relevancia. Para decidir qué combinación de esas regiones más relevantes es la que proporciona mayor separabilidad en el resultado, realizamos otro barrido al que vamos añadiendo las N regiones más relevantes una a una, hasta realizar 18 combinaciones. Para cada ciclo, se aplica MDS y se obtiene la distancia de Bhattacharyya de la matriz de coordenadas obtenidas. Ahí radica la diferencia con lo realizado anteriormente, pues se aplicaba la distancia de Bhattacharyya entre las medidas de las regiones y ahora se aplica a la matriz obtenida tras aplicar escalamiento.

Mediante la función *imagesc* se han representado esas distancias en la Figura 35 para decidir qué combinación de N regiones y k vecinos proporciona mayor separabilidad en la aplicación del algoritmo MDS

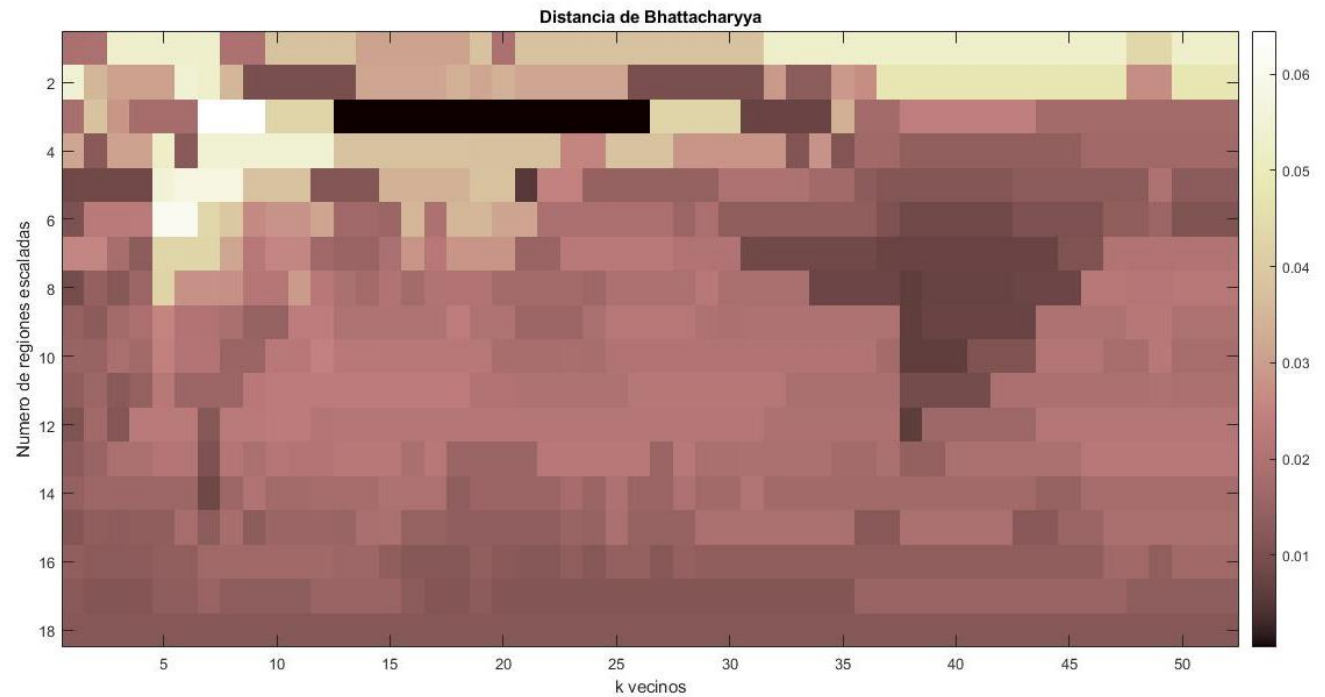


Figura 35: Distancia de Bhattacharyya de la matriz de coordenadas obtenida tras aplicar MDS a una combinación de regiones variante (eje y) escogidas mediante la técnica de selección ReliefF, aplicada para k vecinos distintos.

La Figura 35 indica que el número de vecinos que proporciona mejores resultados tras aplicar MDS y se encuentra en un rango de $k=5:12$. Además, nos muestra que la mejor combinación de regiones se podría considerar al rango de $N=2:8$, teniendo en cuenta que no es posible escalar una sola región. Es especialmente interesante la fila 5 de la matriz dibujada. Se puede considerar la más relevante para $k=7:9$ y también, la más irrelevante para $k=12:28$.

A continuación, representamos los resultados obtenidos mediante escalamiento multidimensional aplicado a las regiones seleccionadas mediante ReliefF con los parámetros obtenidos en la Figura 35.

En la Figura 36, se representan las $N=6$ capas más relevantes obtenidas de aplicar ReliefF con $k=5$ y en la Figura 37 se representan las $N=7$ capas más relevantes obtenidas de aplicar ReliefF con $k=7$.

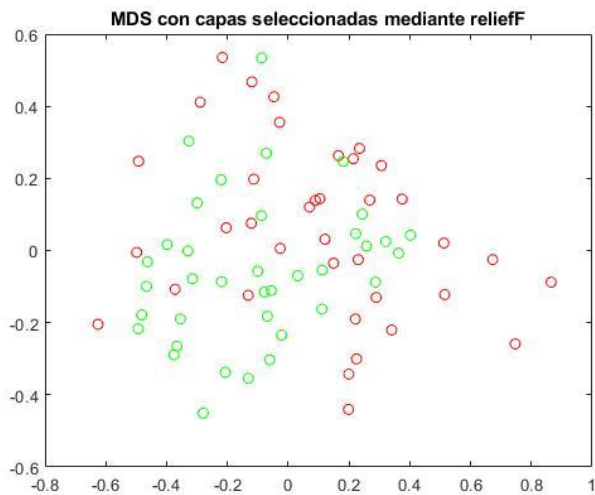


Figura 36: Escalamiento multidimensional de las 6 capas más relevantes obtenidas mediante ReliefF con $k=5$.

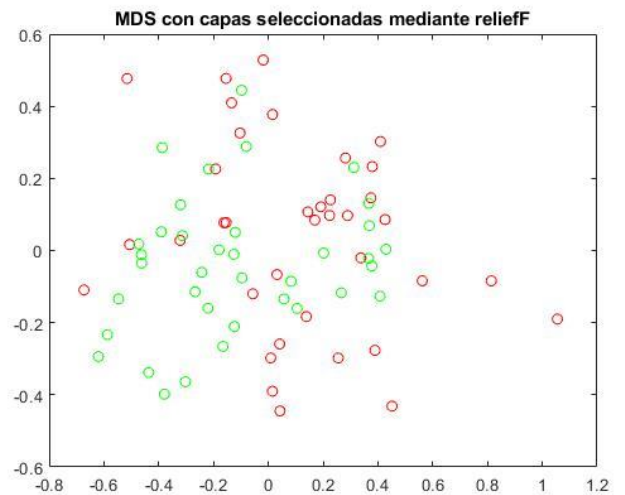


Figura 37: Escalamiento multidimensional de las 7 capas más relevantes obtenidas mediante ReliefF con $k=7$.

En la Figura 38 se representan los resultados obtenidos tras el escalamiento multidimensional de las 4 variables más relevantes obtenidas mediante ReliefF con $k=10$ y en la Figura 39 se representan los resultados obtenidos tras el escalamiento multidimensional de las 2 variables más relevantes obtenidas mediante ReliefF con $k=52$.

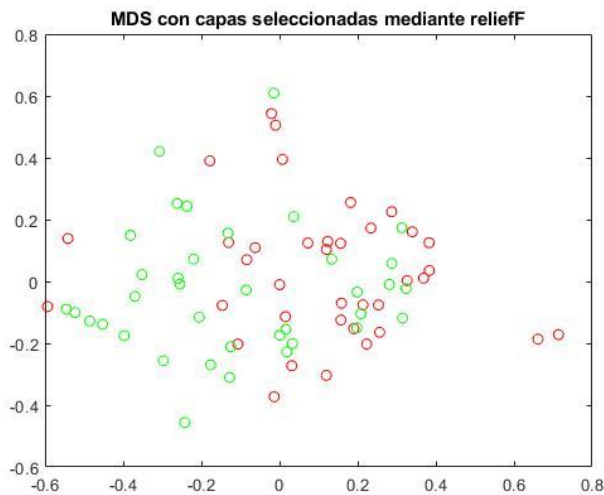


Figura 38: Escalamiento multidimensional de las 4 capas más relevantes obtenidas mediante ReliefF con $k=10$.

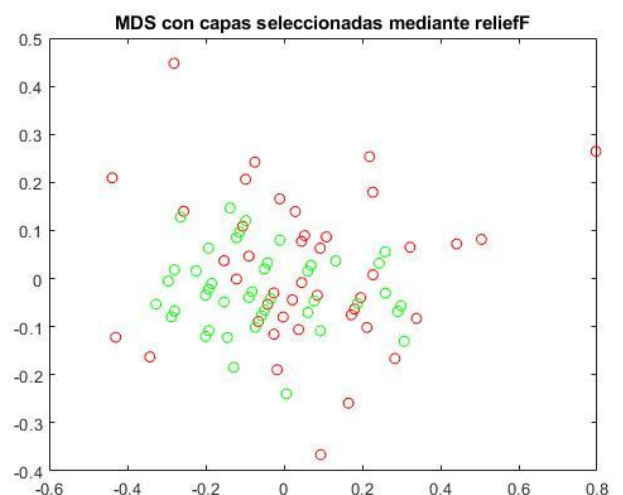


Figura 39: Escalamiento multidimensional de las 2 capas más relevantes obtenidas mediante ReliefF con $k=52$.

En los resultados del escalamiento utilizando ReliefF, se puede observar que las gráficas obtenidas con los distintos parámetros utilizados presentan una mayor separabilidad que la matriz original, en la cual habíamos realizado un escalamiento de todas las capas. Además, también muestran una mejora respecto al escalamiento aplicado a las regiones elegidas a través de los resultados de las métricas de distancia.

Sin embargo, la representación visual, aun estando mejorada, no demuestra una separabilidad clara de las poblaciones. Con el objetivo de tener un resultado matemático de los resultados obtenidos y comparar las distintas técnicas, realizamos la medida de la distancia de Bhattacharyya de cada matriz de coordenadas dada por el algoritmo MDS.

CMDS	Distancias de Bhattacharyya	Regiones más relevantes
Original, N=19	0,0121	Todas
Selección (k=5, N=6)	0,0552	RNFL media RNFL nasal superior GCL temporal RNFL nasal ONL superior RNFL temporal inferior
Selección (k=7, N=7)	0,0434	RNFL media RNFL nasal superior ONL superior RNFL temporal superior GCL temporal RNFL nasal GCL superior
Selección (k=10, N=4)	0,0426	RNFL media ONL superior RNFL temporal superior GCL temporal
Selección (k=52, N=2)	0,0524	RNFL media IPL superior

Tabla 17: Comparación de los resultados obtenidos mediante MDS para las distintas técnicas utilizando la distancia de Bhattacharyya.

En la tabla se observa que la separabilidad mejora en gran medida cuando no tomamos todas las regiones como parámetro de entrada. La separabilidad se incrementa especialmente en el caso en el que solo utilizamos las 6 regiones más relevantes según la técnica de selección ReliefF cuando k=5.

3.3. Resultados

Uno de los objetivos de este trabajo era la utilización de una técnica de escalamiento para visualización de la separabilidad entre dos poblaciones. Como ya se ha mencionado, los resultados aplicados en un primer acercamiento no eran los deseados. Sin embargo, se ha hecho uso de la técnica de selección de características, aumentando la separabilidad de las poblaciones obtenidas tanto visualmente como matemáticamente.

Mediante esa técnica, se ha obtenido el conjunto de regiones óptimo para poder observar separabilidad entre la población sana y patológica (MCI).

El otro punto en el que se ha centrado el trabajo consistía en corroborar los resultados derivados del estudio mediante la comparación de las variables más relevantes obtenidas con las establecidas por el estudio referido.

En la siguiente tabla, se representan las 7 variables obtenidas mediante las distintas técnicas estadísticas realizadas a lo largo del trabajo. La elección de 7 variables como límite de relevancia se debe al cálculo realizado mediante ReliefF, que indicaba que las 7 variables más relevantes tienen el 75 % del peso total de todas las medidas realizadas. En verde aparecen seleccionadas aquellas regiones que se habían declarado como relevantes en el estudio para poder facilitar la comparación.

Orden de relevancia	Prueba T de Student	Distancia de Mahalanobis	Distancia de Bhattacharyya	Selección mediante ReliefF (k=10)
1	RNFL_media	RNFL_media	RNFL_TI	RNFL_media
2	RNFL_TI	GCL_temporal	RNFL_NS	ONL_superior
3	GCL_temporal	RNFL_TI	RNFL_media	RNFL_TS
4	ONL_superior	RNFL_temporal	GCL_temporal	GCL_temporal
5	RNFL_temporal	RNFL_TS	GCL_inferior	RNFL_NS
6	GCL_inferior	GCL_superior	IPL_superior	GCL_nasal
7	GCL_superior	GCL_inferior	GCL_superior	GCL_inferior

Tabla 15: 7 variables más relevantes según distintas técnicas estadísticas para los casos MCI.

Como se puede observar en la tabla, los resultados del estudio coinciden prácticamente en su totalidad con los obtenidos por las diferentes técnicas estadísticas. Se observa una reducción significativa en los valores medidos de las capas mencionadas para los casos con deterioro cognitivo leve en comparación con los casos control. Estos resultados indican una mayor separabilidad en las capas GCL y RNFL.

La región media de la capa RNFL aparece en todas las técnicas aplicadas como la más relevante o una de las más relevantes. La región temporal, temporal superior y temporal inferior de esa misma capa también muestran gran relevancia en todos los resultados. Sin embargo, las regiones nasales de esa capa aparecen como relevantes sólo en la técnica de selección y la distancia de Bhattacharyya. En cuanto a la capa GCL, es relevante en todo su conjunto, especialmente la región superior y temporal, mostrando separabilidad en todas las técnicas aplicadas. Finalmente, las capas IPL y ONL, solo aparecen como relevantes sus respectivas regiones superiores.

Los resultados obtenidos tienen un fundamento científico muy claro. La capa RNFL está formada por las fibras del nervio óptico y la capa GCL está compuesta por células ganglionares que se encuentran en conexión sináptica con esas fibras. El nervio óptico es el encargado de enviar la información obtenida por el ojo al cerebro y por lo tanto tiene una conexión directa con él. Por lo tanto, se puede entender que una patología que dañe ciertas partes del cerebro como puede ser el Alzheimer, también tenga un efecto perjudicial en las capas de la retina más cercanas al nervio óptico y esto sea la razón por la que se reduzcan. Además, las regiones temporales son las que se encuentran más cercanas al nervio. Esta información ayuda a corroborar los resultados

obtenidos, ya que son las regiones temporales las que se han demostrado como más relevantes en la mayoría de las capas. Sin embargo, como se ha mencionado, en la capa RNFL se ha obtenido separabilidad en alguna región nasal. Esto último puede deberse a que la capa RNFL está formada por fibras del nervio óptico y, por lo tanto, tendría sentido que una patología cerebral afectase a esa capa en todas sus regiones.

Sin embargo, la capa IPL se encuentra conectada al nervio óptico por una conexión sináptica más lejana y la capa ONL está todavía más alejada de la membrana limitante interna que separa a la retina del nervio. Esta estructura retiniana sería la razón por la que esas capas se consideren como las menos relevantes tras finalizar el trabajo.

Debido a que los datos estudiados corresponden a la comparación de los sujetos con MCI y los casos sanos, las capas mencionadas se pueden utilizar como un claro biomarcador de la enfermedad del Alzheimer en su estado temprano.

En conclusión, las técnicas estadísticas utilizadas son una manera de visualizar los resultados obtenidos en un estudio clínico de forma más sencilla, además de una forma de cuantificar la fiabilidad de los datos.

Capítulo IV: Conclusiones y líneas futuras

4.1. Conclusiones

Se ha cumplido el objetivo principal del trabajo que consistía en obtener un mayor entendimiento de un *dataset* obtenido a partir de un estudio clínico. Las técnicas aplicadas durante el trabajo han permitido facilitar la visualización de los resultados y comprobar la separabilidad de las poblaciones estudiadas.

Los resultados obtenidos mediante la técnica de escalamiento multidimensional (MDS) no han sido los esperados. Se pretendía obtener una clara separabilidad de las poblaciones que solo hemos conseguido alcanzar gracias a la técnica ReliefF y existe la posibilidad que se deba al número de observaciones del que se disponía. Por ello, en el futuro se podría realizar un estudio más profundo de las razones por las cuales el algoritmo MDS no ha proporcionado la separabilidad esperada.

El trabajo realizado me ha proporcionado una inmersión en el área de la sanidad que me ha resultado muy interesante de estudiar. También, he aprendido diversas técnicas estadísticas cuya aplicación se extiende a diversos ámbitos y que seguramente volveré a utilizar en un futuro. Por último, he ampliado mis conocimientos de programación mediante el Software Matlab, tanto en conocimiento de sus funciones como en facilidad de creación de código.

4.2. Líneas futuras

El trabajo tiene gran potencial para una ampliación futura.

En primer lugar, se podría aplicar este mismo trabajo, a cualquier otro set de datos perteneciente al ámbito clínico y en el que se quiera demostrar la separabilidad entre dos poblaciones estudiadas. En un dataset con una mayor cantidad de observaciones, se llegaría a un resultado óptimo mediante la aplicación de escalamiento multidimensional (MDS). Al escalamiento métrico (CMDS) realizado durante el estudio se le podría añadir la utilización de escalamiento no métrico (NMMDS). Otra línea podría ser la aplicación del algoritmo PCA, utilizado normalmente para reducir la complejidad de espacios muestrales, que por falta de tiempo no se ha podido desarrollar durante este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Organización Mundial de la Salud. (21 de Septiembre de 2020). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- [2] *Confederación española de Alzheimer*. (s.f.). Obtenido de <https://www.ceafa.es/es/el-alzheimer/la-enfermedad-alzheimer>
- [3] *National Institute on Aging*. (s.f.). Obtenido de <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet>
- [4] Fundación Alzheimer España. (2015). *Fundación Alzheimer España*. Obtenido de <http://www.alzfae.org/fundacion/152/problema-diagnostico-alzheimer>
- [5] Rauch, K. (2019). *American Academy of Ophtalmology*. Obtenido de <https://www.aao.org/eye-health/diseases/alzheimers-disease-dementia-eye>
- [6] *Instituto oftalmológico Fernandez-Vega*. (s.f.). Obtenido de <https://fernandez-vega.com/blog/el-ojo-y-el-alzheimer/>
- [7] Obioha, N. (17 de Agosto de 2017). *Cedars Sinai*. Obtenido de <https://www.cedars-sinai.org/newsroom/noninvasive-eye-scan-could-detect-key-signs-of-alzheimers-disease-years-before-patients-show-symptoms/>
- [8] López de Eguileta, A., Lage, C., López García, S., Pozueta, A., García Martínez, M., Kazimierczak, M., . . . Casado, A. (2019). Ganglion cell layer thinning in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research and Clinical Interventions* 5, 570-578.
- [9] Jimenez Bonilla, J. F., Quirce, R., De Arcocha Torres, M., Martínez Rodríguez, I., Martínez Amador, N., Sánchez Salmón, A., . . . Banzo, I. (Mayo de 2019). A 5-year longitudinal evaluation in patients with mild cognitive impairment by 11C-PIB PET/CT. *Nuclear Medicine Communications*, 40(5), 525-531.
- [10] *Alzheimer's Association*. (s.f.). Obtenido de <https://www.alz.org/es/demencia-alzheimer-esp%C3%B1a.asp>
- [11] De la Vega, R. y Zambrano, A. Alzheimer [en línea]. Circunvalación del Hipocampo, octubre 2013 [Consulta: 22 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.hipocampo.org/alzheimer.asp>
- [12] Clunk, W. E. (Marzo de 2008). Frequent Amyloid Deposition Without Significant Cognitive Impairment Among the Elderly.
- [13] Yannuzzi, K. B. (2016). *The Retinal Atlas* (2 ed.). Elsevier.
- [14] Méndez Vilas, A., & Díaz, J. (2010). *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*. Badajoz.
- [15] Grzybowski, A., & Barboni, P. (2016). *OCT and Imaging in Central Nervous System Diseases*. Springer.

- [16] Pérttega Díaz S., P. F. (2001). Métodos paramétricos para la comparación de dos medias. t de Student
- [17] Salas Plata, J., & Escobedo Portillo, M. (2008). Mahalanobis y las aplicaciones de su distancia estadística. *Revista de Ciencias Sociales y Humanidades*.
- [18] Nagino, G., & Shokazai, M. (2006). Distance Measure between Gaussian Distributions.
- [19] Bhattacharyya, A. (1943). "On a measure of divergence between two statistical populations defined by their probability distributions". Bulletin of the Calcutta Mathematical Society. 35: 99–109. MR 0010358.
- [20] Reyes Calzado, M. E., Quintero Roba, J. A., & Miret Barroso, E. (Noviembre de 2017). Metaheurísticas Aplicadas A La Solución Del Problema De Minimización Del Stress En El Escalamiento Multidimensional.
- [21] Stephanie Glen. "Multidimensional Scaling: Definition, Overview, Examples" From StatisticsHowTo.com: Elementary Statistics for the rest of us! <https://www.statisticshowto.com/multidimensional-scaling/>
- [22] Urbanowicz, R. J., Meeker, M., La Cava, W., Olson, R. S., & Moore, J. H. (Septiembre de 2018). Relief-based feature selection: Introduction and review. *Journal of Biomedical Informatics*, 189-203.
- [23] Matlab (Versión R2020A). (2020). [Software]. Mathworks. <https://es.mathworks.com/products/matlab.html>

Referencias a Imágenes

- [25] Peña, Bernardo.(2019). Corteza entorrinal: Te revelamos sus secretos. [Ilustración]. Recuperado de <https://www.psycoactiva.com/blog/corteza-entorrinal/>
- [26] Ishii, .K .(2014). PET approaches for Diagnosis of Dementia. [Ilustración]. Recuperado de <http://www.ajnr.org/content/35/11/2030>
- [27] Peña, Maria S.(2014). Anatomía del ojo. [Ilustración]. Recuperado de <https://www.socv.org/anatomia-del-ojo/>
- [28] Clínica Rahhal. (2015). Mácula ocular: ¿qué es y qué función desempeña?. [Ilustración]. Recuperado de <https://www.rahhal.com/blog/macula-ocular-que-es-y-que-funcion-desempena/>
- [29] Heidelberg Engineering. (2016). Know your retinal layers. [Ilustración]. Recuperado de <https://www.heidelbergengineering.co.uk/news/know-your-retinal-layers-33401465/>



**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA